CRISTINA MANDRAVEL
RODICA STĂNESCU DUMITRU
VALENTINA CHIOSA

RELAȚII ÎNTRE STRUCTURĂ, PROPRIETĂȚI ȘI ACTIVITATE BIOLOGICĂ APLICATE LA POLUANȚI INDUSTRIALI

Editura Universității din București

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CRISTINA MANDRAVEL
RODICA STĂNESCU DUMITRU VALENTINA CHIOSA

RELAȚII ÎNTRE STRUCTURĂ, PROPRIETĂȚI ŞI ACTIVITATE BIOLOGICĂ APLICATE LA POLUANȚI INDUSTRIALI

Editura Universității din Bucureşti
2003

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ
BUCUREȘTI
COTA III 476066
560/03 III

Referenți științifici: Prof. dr. **V. Em. Sahini**
Prof. dr. **Mihaela Hillebrand**

B.C.U. Bucuresti
C20032644

© Editura Universității din București
Șos. Panduri, 90-92, București - 76235; Telefon/Fax: 410.23.84
E-mail: editura@unibuc.ro
Internet: www.editura.unibuc.ro

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale României
MANDRAVEL, CRISTINA
Relații între structură, proprietăți și activitate biologică aplicate la poluanți industriali / Cristina Mandravel, Rodica Stănescu Dumitru, Valentina Chiosa – București: Editura Universității din București, 2003
176 p.
Bibliografie
ISBN 973-575-725-7

I. Dumitru Stănescu, Rodica
II. Chiosa, Valentina

504.054

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CUPRINS

Prefață.....7

1.Introducere.....9

2. Clasificarea noxelor industriale. Noțiuni fundamentale utilizate în toxicologia industrială.....11

3. Proprietăți fizico-chimice care determină efectele biologice ale substanțelor.....14

3.1. Proprietăți fizico-chimice care determină efectele biologice ale substanțelor toxice industriale.....15

3.1.1. Doza.....15

3.1.2. Structura chimică.....20

3.1.2.1. Proprietăți fizice corelate cu structura moleculară.....21
3.1.2.1.1. Starea de agregare.....21
3.1.2.1.2. Masa moleculară și gradul de dispersie.....21
3.1.2.1.3. Structura cristalinaă.....23
3.1.2.1.4. Volatilitatea.....23
3.1.2.1.5. Lipo- si hidrosolubilitatea.....24
3.1.2.1.6. Gradul de ionizare (pH, pK).....29
3.1.2.1.7. Exerciții și probleme.....31

3.1.2.2. Proprietăți chimice corelate cu structura moleculară.....32
3.1.2.2.1. Grupările chimice.....32
3.1.2.2.2. Izomeria.....33
3.1.2.2.3. Tipul legăturilor chimice.....33
3.1.2.2.4. Structura electronică.....38

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.2. Proprietăţi fizico-chimice care determină efectele biologice ale pulberilor industriale 44

3.2.1. Pulberi silicogene 44
3.2.1.1. Mărimea şi proprietăţile adsorbtive ale particulelor 44
3.2.1.2. Structura cristalină 48
3.2.1.3. Structura electronică 49

3.2.2. Pulberi de azbest 53
3.2.2.1. Dimensiunile şi morfologia fibrelor 53
3.2.2.2. Solubilitatea în mediile biologice 56
3.2.2.3. Sarcina electrică 57
3.2.2.4. Activitatea catalitică 58

3.2.3. Fibre minerale artificiale 63
3.2.3.1. Dimensiunile fibrelor 64
3.2.3.2. Solubilitatea şi durabilitatea 65
3.2.3.3. Activitatea de suprafaţă 66

3.2.4. Pulberi metalice 66

3.2.5. Determinarea capacităţii respiratorii cu ajutorul spirometrului *Air life - lucrare practică* 68

4. Proprietăţi fizico-chimice utilizate în studiul riscului potenţial de poluare a mediului prin noi substanţe chimice sintetizate la scara industrială 75

4.1. Spectre de absorbţie UV-vis 76

4.2. Punctul de topire / Intervalul de topire 76

4.3. Punctul de fierbere / Intervalul de fierbere 77

4.4. Curba presiunii de vapori 77

4.5. Solubilitatea în apă 77

4.5.1 Evaluarea impactului poluării asupra calităţii apelor de suprafaţă. Indicatori de calitate 79

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4.5.1.1. Determinarea concentrației oxigenului dizolvat în ape de râu prin metoda iodometrică - lucrare practică.....79
4.5.1.2. Determinarea concentrației presiunii parțiale și gradului de saturație al oxigenului în ape de râu cu oxigenometrul Inolab Oxilevel 2 - lucrare practică.....82
4.5.1.3. Determinarea consumului chimic de oxigen CCO – Mn în ape reziduale - lucrare practică.....86
4.5.1.4. Determinarea CBO_5 în ape de râu - lucrare practică.....8
4.5.1.5. Determinarea conținutului de cloruri în ape de suprafață cu salinitate ridicată - lucrare practică.....90
4.5.1.6. *Interpretarea rezultatelor pe baza scării de bonitate*.....92

4.6 Procesele de adsorbție / desorbție.....93

4.7. Coeficientul de repartiție (n-octanol / apă).....93

4.8.Activitatea termodinamică.....95

4.9. Alți parametri.....95

5. Relații cantitative structură chimică - activitate biologică.....97

5.1. Analiza Hansch.....98
5.1.1. Ecuația Hammett.....98
5.1.2. Ecuația Taft.....104
5.1.2.1. Constantele de substituent inductive.....105
5.1.2.2. Constantele de substituent care descriu efectul steric.....105
5.1.2.3. Separarea efectelor inductive de cele de conjugare în compusii meta- si para-substituiti.....105
5.1.2.4. Constante de substituent care descriu radicalii liberi.....106

5.1.3. Ecuația Zahradnik.....106
5.1.4. Ecuația Hansch.....108
5.1.4.1. Exemple de analiză Hansch în cazul unor poluanți industriali.....116

5.2. Metoda Free-Wilson.....122

5.3. Metoda de corelare structură-efect.....124

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

5.4. Calculul indicilor de reactivitate....124
5.4.1. Metode de calcul al indicilor de reactivitate....124
5.4.2. Indici de reactivitate....126
5.4.2.1. Aproximația statică (modelul moleculelor izolate)....126
5.4.2.2. Aproximația dinamică....128

5.5. Aplicabilitatea metodelor QSAR in toxicologie....130

5.6 Exerciții și probleme....132

6. Determinarea entropiei și informației ecologice....134

6.1 Generalități....138

6.2 Calculul entropiei, informației și echitabilității ecologice privind biocenoza subspeciilor Caraboidea înainte și după administrarea de pesticide – *lucrare practica*....138

6.3 Studiul acțiunii toxice a cuprului asupra faunei active – *lucrare practica*...138

7. Calculul toxicității și limitelor admise ale poluanților industriali din date fizico chimice....149

7.1 Corelații între proprietățile fizico – chimice și indicii de toxicitate....149

7.2 Corelații între indicii de toxicitate și nivelele permise ale substanțelor în mediu....154

7.3 Exerciții și probleme....156

8. Bibliografie....158

9. Anexe....167

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

PREFAȚĂ

Știință fundamentală a naturii, chimia - disciplină a oricărui obiect îl constituie studiul substanțelor și al transformării acestora - a făcut ca, prin aplicațiile sale, să modifice profund condițiile de viață și de activitate ale omenirii. Omniprezența chimiei în societate este una din caracteristicile importante ale acestui sfârșit de secol și de mileniu, convingător ilustrată de lista foarte cuprinzătoare și în continuă lărgire de medicamente de uz uman și veterinar, îngrășăminte, biostimulatori, antidăunători, combustibili, lubrifianți, fire și fibre sintetice, elastomeri, coloranți, lacuri, vopsele, agenți de spălare, materiale de construcție, sticlă, hârtie, carton, celuloză etc., la care se adaugă produse ale industriei metalurgice și ale celei alimentare. Practic, toate celelate ramuri ale industriei fac pe larg apel la produse ale industriei chimice. Pe buna dreptate s-a afirmat că această disciplină a intervenit considerabil pentru a ajuta omenirea în alimentație, în apărarea sănătății, în asigurarea unor condiții cât mai bune de viață, în efortul general de dezvoltare a economiei, iar în ultimele decenii sunt demne de menționat aplicațiile chimiei în electronică și microelectronică, în industria aerospațială, energetică, nucleară etc.

Această dezvoltare impresionantă a chimiei aplicate, împreună cu celelalte ramuri industriale, care, de altfel, au beneficiat în măsură diferită de produsele industriei chimice, a fost însoțită, însa, proporțional cu producția realizată, de procese diferite de perturbare a mediului ambiant în urma poluării atmosferei, apelor, solului, și, într-o oarecare măsura, a subsolului.

Aceste procese, uneori deosebit de complicate și cu evoluție dependentă de numeroși factori locali dar și aleatorii, au condus, în timp, la „o nouă filosofie" a progresului industriei, în general, al celei chimice în special, ținânad seama de implicațiile acesteia în alimentație, sănatate, transport etc. Această orientare are în vedere, în special, o dezvolatare suportabilă, acceptabilă în mai mare măsură decât un consum bazat pe distrugerea resurselor naturale. Aliniindu-se la acest efort al chimiei contemporane, volumul doamnelor Prof. Dr. Cristina Mandravel și Cerc. Dr. Rodica Stanescu Dumitru, ***Relații între structură, proprietați și activitate biologică aplicate la poluanți industriali,*** *completează o lacună a literaturii de specialitate, făcând o utilă prezentare a unor laturi fizico-chimice ale tematicii respective.*

Această tratare este deosebit de importantă deoarece se abordează laturile cauzale ale efectelor biologice ale unor poluanți industriali, expunerea urmând să asigure cititorului cunoștințe generale pentru a reda cantitativ relațiile cauză-efect și a explica procesele respective în cadrul unor modele fizico-chimice.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Aspectele centrale ale problemei sunt bine expuse şi sistematic tratate: clasificarea noxelor industriale, riscul potenţial de poluare şi calculul toxicităţii poluanţilor industriali din date fizico-chimice.

În această ultimă problemă, autoarele expun şi unele contribuţii originale, de mare utilitate în condiţiile concrete ale industriei şi pentru a asigura monitorizarea şi interpretarea factorilor care influenţează activitatea umană.

În această perspectivă, volumul de faţă constituie o valoroasă contribuţie la alinierea industriei chimice din Romania la standardele ecologice foarte ridicate ale Europei Occidentale.

Acad. Prof. Dr. V. Em. SAHINI

PREFAŢĂ

La ediţia a II- a a lucrării

Republicarea noului volum "Relaţii între structură, proprietăţi şi activitate biologică aplicate la poluanţi industriali" la numai 4 ani de la apariţie dovedeşte în mod evident atât valoarea sa cât şi interesul deosebit pe care l-a trezit în rândul studenţilor. Faptul este remarcabil şi dacă se au în vedere problemele, unele cu consecinţe grave, care în aceşti ultimi ani au provocat perturbarea puternică a mediului ambiant din România. Întărind cele prezentate în analiza primei ediţii, volumul de faţă se prezintă ca având remarcabile adânciri ale unor cunoştinţe anterioare, totul corespunzând scopului său didactic. Este de semnalat astfel introducerea unor exerciţii şi probleme ca şi a unor lucrări practice utile. Deosebit de interesante sunt şi unele paragrafe referitoare la evaluarea impactului poluării asupra calităţii apelor de suprafaţă şi la determinarea entropiei şi informaţiei ecologice. Volumul are o listă bibliografică completă şi un foarte util capitol cuprinzând anexe.

În ansmblu această ediţie a volumului prezintă o structurare mai apropiata de caracterul concret al unor probleme foarte interesante pentru studiul fizico-chimic al mediului inconjurator şi al fenomenelor complexe de poluare, iar autoarele pot fi felicitate pentru realizarea lui.

Bucureşti,
5.12.2002

Acad. Prof. V. Em. Sahini

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

1. INTRODUCERE

Importanţa practică a stabilirii unor relaţii între structură, proprietăţile şi acţiunea biologică a poluanţilor industriali rezidă în principal în posibilitatea evaluării reale a riscului în expunere atât prin calculul indicilor de toxicitate cât şi a limitelor de expunere a substanţelor industriale.

Studiul unor astfel de relaţii deschide noi căi în domeniul prevenirii şi combaterii efectelor biologice ale noxelor industriale prin argumentarea mecanismelor de acţiune ale acestora, prin interpretarea diferenţelor de activitate biologică în funcţie de proprietăţile fizico-chimice şi prin "proiectare " moleculară a medicamentelor, pesticidelor etc.

Cunoaşterea relaţiilor structură-activitate biologică permite semnalarea structurilor potenţial cancerigene şi în consecinţă testarea lor prioritară, prin aceasta contribuind la micşorarea riscului pe care îl prezintă compuşii cancerigeni asupra sănătăţii populaţiei.

Se estimează că în cazul obţinerii unui pesticid comercial, numărul compuşilor testaţi se situează între 3000 şi 8000. De asemenea, pentru fiecare medicament nou se testează între 3000 şi 5000 de compuşi. Utilizarea relaţiilor cantitative structura chimică-activitate biologică a permis reducerea de 20-30 de ori a cifrelor menţionate mai sus [1].

Posibilitatea măsurării mai acurate, mai rapide şi mai puţin costisitoare a proprietăţilor fizico-chimice ale substanţelor comparativ cu efectele lor biologice oferă alternativa înlocuirii, într-o oarecare măsură, a experimentelor pe animale pentru testarea toxicităţii prin tehnici pe computer.

Lucrarea abordează, în acord cu importanţa teoretică şi practică, studiul proprietăţilor fizico-chimice determinante pentru activitatea biologică a poluanţilor industriali, subcapitole separate fiind destinate noxelor chimice sau

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

substanţelor toxice şi noxelor fizico-chimice sau pulberilor. Într-un capitol separat este abordat studiul proprietăţilor utilizate pentru aprecierea riscului potenţial de poluare a mediului prin noi substanţe chimice sintetizate la scară industrială.

O atenţie sporită s-a acordat capitolului privind relaţiile cantitative structură chimică-activitate biologică, insistându-se asupra înţelegerii aprofundate a semnificaţiei acestora şi asupra rolului pe care acestea l-ar putea avea în deciziile care se iau privind acţiunea toxică a poluanţilor.

Un ultim capitol priveşte calculul toxicităţii poluanţilor industriali din date fizico-chimice. În cadrul acestui capitol sunt discutate o serie de cazuri de predicţie a toxicităţii poluanţilor aerului industrial pe baza corelaţiilor între proprietăţile fizico-chimice şi indicii de toxicitate, pe de o parte, şi între indicii toxicităţii acute şi nivelele permise ale substanţelor în aer, pe de altă parte.

Prin utilizarea unor cunoştinţe din domeniul unor discipline de graniţă şi a unor metode menite a spori acurateţea cercetărilor toxicologice paralel cu reducerea timpului şi a costului acestora, lucrarea se adresează tuturor specialiştilor preocupaţi de problematica prevenirii poluării mediului ambiant, în general, şi a celui industrial, în special.

Observaţiile asupra cărţii, semnalarea scăderilor şi propunerile de îmbunătăţire a materialului prezentat vor fi primite de autori cu recunoştinţă.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

2. CLASIFICAREA NOXELOR INDUSTRIALE. NOȚIUNI FUNDAMENTALE UTILIZATE ÎN TOXICOLOGIA INDUSTRIALĂ

Munca în sine nu este un factor nociv, un factor etiologic al unor îmbolnăviri, ci dimpotrivă reprezintă un factor de generare şi de menținere a stării de sănătate.

Activitatea profesională (munca) se desfăşoară în anumite condiții numite *condiții de muncă* care se pot transforma uneori în factori etiologici ai bolilor profesionale.

Condițiile de munca includ o serie de factori dintre care de o importanță deosebită sunt *factorii mediului de muncă.* Aceştia sunt constituiți la rândul lor dintr-o serie de alți factori şi anume [2] :

a. factori *fizici* : temperatura şi umiditatea aerului, zgomotul, trepidațiile, radiațiile ionizante şi neionizante etc. ;
b. factori *chimici* ce cuprind substanțele chimice rezultate din procesele tehnologice şi care pot deveni toxice profesionale când concentrația lor în aerul zonelor de muncă depăşeşte limitele maxime admise ;
c. în categoria factorilor *fizico-chimici* sunt cuprinse pulberile anorganice şi organice de natură animală sau vegetală existente în aerul locurilor de muncă.

În aceasta lucrare se va face o tratare separată a substanțelor toxice şi a pulberilor privind proprietățile fizico-chimice determinante pentru activitatea lor biologică.

Când unii din factorii componenți ai condițiilor de munca au efect nefavorabil asupra capacității de muncă sau asupra sănătății muncitorilor ei devin *noxe profesionale.*

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Evaluarea, printr-o supraveghere permanentă a noxelor din mediul de muncă se numeşte *monitorizarea* mediului de muncă. Monitorizarea (care se realizează prin măsurare calitativă şi cantitativă a factorilor nocivi fizici, chimici, biologici, fiziologici psiho-sociali) are drept scop precizarea gradului de risc [3]. În cazul poluanţilor chimici şi fizico-chimici o serie de alte studii, dintre care merită amintite cele experimentale, epidemiologice şi nu în ultimul rând studiile între structura chimică şi activitatea biologic, se utilizează pentru stabilirea toxicităţii acestora.

Toxic este substanţa care după pătrunderea în organism în doză relativ ridicată (unică sau repetată la intervale scurte), sau în doze mici (repetate în timp îndelungat), determină imediat sau după o perioadă de latenţă, în mod trecător sau persistent, alterarea uneia sau mai multor funcţii ale organismului, putând duce la moarte [4,5].

De fapt, nu există substanţă toxică în sine. Se poate afirma că orice molecula instabilă termodinamic la o temperatură depăşind zero absolut prezintă o reactivitate care, în anumite condiţii, se poate exprima prin toxicitate. Ca urmare, sfera noţiunii de toxic este mai largă, cuprinzând pe lângă toxicii recunoscuţi şi substanţe utilizate în diferite domenii, ca de ex. medicamentele.

Toxicitatea reprezintă gradul de incompatibilitate a unei substanţe cu viaţa unui organism.

Hazardul reprezintă capacitatea inerentă a unui agent sau proces chimic, fizic (fizico-chimic) sau biologic de a produce efecte nocive în condiţiile poluării mediului.

Prin *risc* se înţelege probabilitatea ca acel agent sau proces (chimic, fizic, biologic) să cauzeze efecte nocive [5].

Deşi expunerile profesionale (factorii mediului de muncă) au fost definite ca fiind fizice, chimice şi fizico-chimice, trebuie menţionat faptul că acestea sunt

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

de obicei *multiple*, muncitorii fiind expuşi simultan sau succesiv diferiţilor agenţi fizici, chimici etc.

Combinarea diferiţilor factori existenţi în mediul de muncă sau în afara lui poate avea un efect diferit de cel provocat de fiecare dintre aceşti factori luaţi separat. În acest sens, au fost definite următoarele tipuri de efecte combinate pentru expunerile multiple [6] :

- efecte *independente* sau *indiferente:* acţiunea substanţelor prezente în aerul zonelor de muncă se desfăşoară independent, adică fiecare dintre substanţe produce un efect diferit, datorită unui mod de acţiune diferit ;

- efecte *sinergice* când substanţele acţionează în acelaşi sens. Efectul global poate fi de doua feluri :

a. de *adiţie (sumaţie)* când efectul combinat este egal sau mai mic decât suma efectelor substanţelor considerate luate separat ; acest efect are loc când substanţele acţionează asupra aceluiaşi tip de receptor

b. de *potenţare* când efectul combinat este mai mare decât suma efectelor substanţelor considerate luate separat ; acest efect are loc când substanţele acţionează asupra unor receptori diferiţi

- efecte *antagonice*: substanţele considerate acţionează în sens contrar, rezultând un efect global (efectul combinat) micşorat, nul sau inversat.

De menţionat că în toxicologia industrială sinergismul este mai frecvent întâlnit comparativ cu fenomenele de antagonism [6].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3. PROPRIETĂŢI FIZICO - CHIMICE CARE DETERMINĂ EFECTELE BIOLOGICE ALE SUBSTANŢELOR

În toxicologie, activitatea biologică a unui *substrat (poluant)* se exprimă pe baza interacţiunii moleculelor poluantului cu anumite molecule specifice din organism, complecşi moleculari sau părţi ale lor care caracterizează *substratul activ* şi care se numesc *receptori.* Receptorii biologici sunt deci entităţi structurale ce mediază apariţia răspunsului biologic. Receptorii sunt localizaţi în biomacromolecule (proteine, acizi nucleici, polizaharide) sau pe membranele biologice [7,8].

Conform teoriei receptorului, o interacţiune substrat – receptor depinde de *afinitatea chimică* a moleculelor substratului (sau a unuia dintre metaboliţii acestuia) şi receptorului dar şi de un *aranjament spaţial* favorabil al acestora.

În toate etapele drumului parcurs de un poluant în organism (pătrundere, absorbţie, depozitare şi/sau acumulare, metabolizare, eliminare) tipul de efect şi intensitatea acestuia sunt preponderent determinate de proprietăţile fizice şi chimice ale acestuia, ponderea unora fiind diferită de la o etapa la alta. Alţi factori care influenţează activitatea biologică a substanţelor sunt cei dependenţi de organism (specia, sexul, vârsta, starea psihică, stările patologice, factorii genetici, bioritmul) şi cei dependenţi de condiţiile de mediu (condiţiile de confort, temperatură, presiunea atmosferică, zgomotul, radiaţiile ionizante, alimentaţia şi starea de nutriţie) [4,7].

În cele ce urmează vor fi expuse proprietăţile fizico-chimice care determină activitatea biologică a poluanţilor industriali, insistându-se asupra acelora care sunt responsabile de toxicitatea acestora.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.1. PROPRIETĂŢI FIZICO-CHIMICE CARE DETERMINĂ EFECTELE BIOLOGICE ALE SUBSTANŢELOR TOXICE INDUSTRIALE

3.1.1. Doza reprezintă cantitatea de substanţă care, introdusă în organism produce un efect determinat. Doza de substanţă absorbită ca măsură a toxicităţii substanţelor inhalate este direct proporţională cu concentraţia de toxic existent în aer şi cu timpul de expunere [5,9,10] :

$$\text{Doza} = C \times t \times MV \times \alpha \qquad (3.1)$$

unde C - concentraţia toxicului în aer

t - timpul de expunere

MV - minut volum (este o constantă care depinde de capacitatea respiratorie a persoanei expuse şi de volatilitatea substanţei inhalate)

α - coeficient de reţinere al toxicului în organism (retenţie %)

În fig. 3.1 sunt prezentate relaţiile doza-efect în cazul expunerii la clor [5].

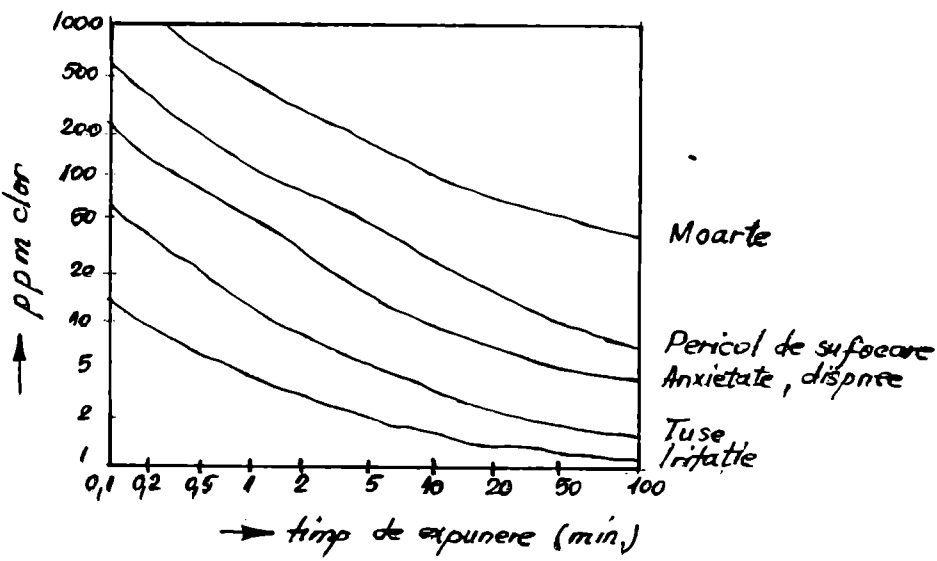


Fig. 3.1. *Toxicitatea clorului.*

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Se observă din fig. 3.1 ca efectele induse depind de doza administrată.

Pentru supravegherea expunerii la toxice profesionale se folosesc noţiunile de doză-efect şi doză-răspuns. *Relaţia doză-efect* se referă la efectul toxic produs de o singura doză (efectul este strict dependent de mărimea dozei) (fig. 3.2a). *Relaţia doză-răspuns* se referă la numărul (procentul) de indivizi dintr-un grup care prezintă aceleaşi modificări (dau acelaşi răspuns) la o anumită doză de toxic (fig. 3.2b) [5,11,12,13]

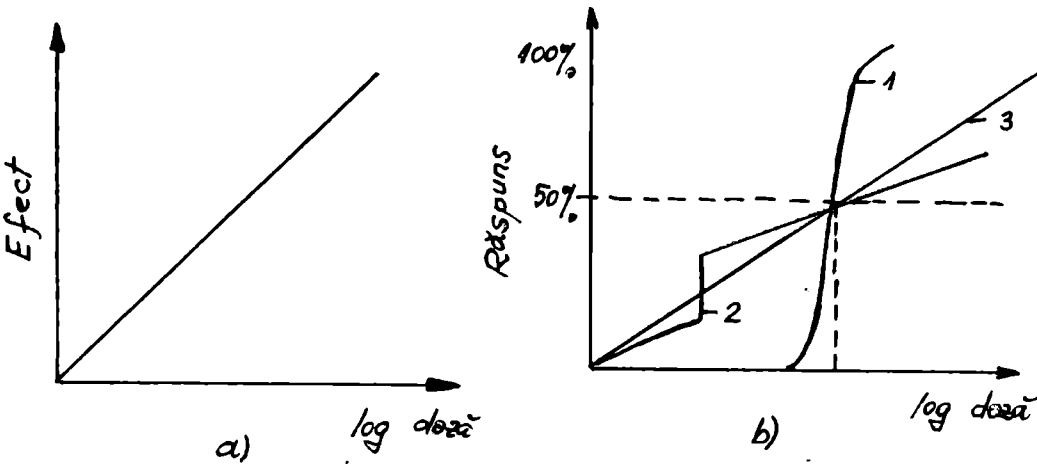


Fig. 3.2. *a) relaţia doză efect; b) relaţia doză răspuns:*

1. în cazul intoxicaţiilor inhalatorii cu gaze iritante;

2. în cazul experimentului subcronic; 3. în cazul experimentului acut.

Referitor la doză, se definesc o serie de parametri (indici) de bază şi parametri (indici) derivaţi utilizaţi pentru determinarea toxicităţii şi aprecierea riscului substanţelor chimice [2, 4, 5, 12]. Astfel, următorii *parametri de bază* pot fi enumeraţi:

- *doza toxică* reprezintă cantitatea de substanţă capabilă sa determine efecte toxice;

- *doza letală (DL)* exprimă toxicitatea acută a substanţelor chimice care pătrund în organism pe cale orală sau parenterală (injectabilă). Doza letală

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

variază cu specia, starea de nutriție, starea de stres etc. (adică nu este un parametru constant al substanțelor ca de ex. densitatea, solubilitatea sau presiunea de vapori). Aceasta doză nu este un indicator fidel al toxicității acute și se utilizează în scopul controlului intoxicațiilor în experimente pe animale precum și pentru scopuri administrative (clasificarea substanțelor), dar nu se poate face nici o predicție a toxicității cronice.

Doza letală se stabilește experimental și se exprimă în mg/kg corp. Se notează cu DL urmat de un indice de la 1 la 100 care indică procentul de letalitate într-un timp dat. Astfel, se disting următoarele tipuri de DL : DL_5 (DLM) = doza letală minimă ; DL_{50} (DML) = doza medie letală ; DL_{75} = doza fatală ; DL_{100} = doza maximă letală (doza letală absolută) ; DL_0 = doza maximă tolerată (este folosită adesea în practică deși nu este o doză letală, aceasta indicând producerea de efecte toxice, dar nu letale).

- *concentrația letală în atmosferă (CL)* exprimă toxicitatea acută a substanțelor chimice care pătrund pe cale respiratorie și are aceeași semnificație și categorii ca și DL

- *pragul de efect acut integrat* ($Lim_{ac.int.}$) este corelat cu starea generală de sănătate, apreciată prin reacții comportamentale, capacitate de muncă fizică și psihica, metabolism energetic etc.

- *pragul de efect acut specific* ($Lim_{ac\ sp}$) este corelat cu starea unui sistem, organ, țesut, celule ;

- *coeficientul de acumulare* (expunere repetată) I_{cum}, este dat de relația :

$$I_{cum} = \frac{DL_{50}}{\sum DL_{50}} \qquad (3.2)$$

- *pragul de efect nociv* se consideră a fi doza (sau concentrația) minimă care determină la animalele expuse (în condiții de expunere standard și utilizând loturi de animale standardizate statistic) modificări care depășesc limitele reacțiilor de adaptare fiziologică.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

S-au definit următorii *parametri derivați* :

- *zona de efect acut (Z_{ac})* :

$$Z_{ac} = \frac{CL_{50}}{Lim_{ac}} \tag{3.3}$$

- *zona de efect specific (Z_{sp})* :

$$Z_{sp} = \frac{Lim_{ac\,int}}{Lim_{acsp}} \tag{3.4}$$

- *zona de efect cronic (Z_{cr}) :*

$$Z_{cr} = \frac{Lim_{ac}}{Lim_{cr}} \tag{3.5}$$

unde Lim_{cr} = pragul de efect cronic

- *coeficientul de intoxicație potențială prin inhalare (CIPI)* :

$$CIPI = \frac{C_{20}}{CL_{50}} \tag{3.6}$$

- *zona de efect biologic (Z_{biol}) :*

$$Z_{biol} = \frac{DL_{50}(sau CL_{50})}{Lim_{cr}} \tag{3.7}$$

- *coeficientul de siguranță (I_s) :*

$$I_s = \frac{Lim_{cr}}{CAV} \tag{3.8}$$

unde CAV = concentrația admisibilă de vârf

- *potențialul de toxicitate (pT)* este dat de relația :

$$pT = \log [T] \tag{3.9}$$

unde T = concentrația molară toxică a substanței exprimată în moli / kg şi se calculează după valoarea DL_{50} i. p. la şoareci

pT se foloseşte pentru aprecierea mai exactă a toxicității acute a substanțelor cu mase moleculare variind între 300 – 1 000 000.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În scopul evitării apariției efectelor toxice ale substanțelor chimice existente în atmosfera zonelor industriale, s-au stabilit *limite de expunere*. Această denumire este recomandată de Biroul Internațional al Muncii a fi utilizată în locul termenilor de « concentrație maximă admisă » sau « limită tolerabilă » deoarece noțiunea de « admis » implică recunoașterea administrativă care nu întotdeauna există, iar noțiunea de « tolerabil » se referă la o evaluare biologică și nu este întotdeauna valabilă pentru toți muncitorii [2].

S-au definit următoarele limite de expunere [2,4,14] :

- *Valoarea limită prag – medie ponderată cu timpul* (după terminologia americană TLV-TWA sau Threshold Limit Value – Time Weight Average) a fost definită în 1977 la Geneva de consfătuirea experților asupra limitelor de expunere la substanțe periculoase în aer, ca reprezentând concentrația medie ponderată cu timpul a unei substanțe nocive în aer, despre care se știe că nu are efecte nocive pe termen lung și asupra generațiilor viitoare la o expunere de 8 ore/zi și 40 ore/săptămână. Experții americani definesc această limită ca reprezentând concentrația medie ponderată cu timpul a unei substanțe în aer pentru 8 ore/zi și 40 ore/săptămână, la care muncitorii pot fi expuși în fiecare zi fără a se produce vreun efect advers. Reiese din definiție ca această expunere poate cuprinde durata întregii activități profesionale. Aceasta limită corespunde, conform legislației din țara noastră, *concentrației admisibile medii (CAM).*

- *Valoarea limită prag – plafon (*TLV-C sau Threshold Limit Value – Ceiling) reprezintă concentrația care nu trebuie depășită nici o secundă (chiar în cazul concentrațiilor instantanee) și corespunde, conform legislației din țara noastră, *concentrației admisibile de vârf (CAV).*

- *Valoarea limită prag – limita pentru o expunere pe termen scurt* (TLV – STEL sau Threshold Limit Value – Short Term Exposure Limit) este expunerea medie ponderată cu timpul pe o perioadă de 15 min. (care nu trebuie sa se repete mai mult de doua ori pe zi) la care muncitorii expuși nu trebuie să

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

sufere: 1. Fenomene de tip iritativ; 2. Modificări cronice sau ireversibile ale ţesuturilor; 3. Narcoză ce poate creşte riscul de accidente şi poate să scadă capacitatea de salvare în caz de necesitate sau reduce capacitatea de muncă. Între două expuneri la STEL trebuie să existe cel puţin 60 min. Această limita nu are corespondent în legislaţia din ţara noastră.

Trebuie remarcat faptul că limitele de expunere sunt utilizate în scopul prevenirii apariţiei bolilor profesionale, dar ele nu garantează complet sănătatea tuturor muncitorilor expuşi [2].

3.1.2 Structura chimică

Structura substanţelor determină atât activitatea chimica cât şi activitatea biologică a acestora (fig. 3.3)

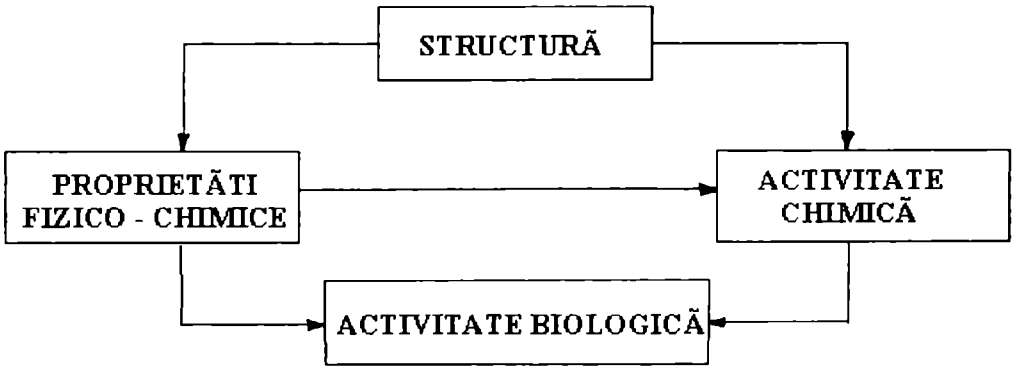


Fig. 3.3. *Relaţia între structură, proprietăţi şi activitatea biologică a substanţelor chimice*

Proprietăţile corelate cu structura moleculară pot fi de natură fizică sau chimică.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.1.2.1 Proprietăți fizice corelate cu structura moleculară

Acest grup de proprietăți include starea de agregare a substanțelor, masa moleculară şi gradul de dispersie al acestora, forma amorfă, volatilitatea, hidro- şi liposolubilitatea, gradul de ionizare.

3.1.2.1.1. Starea de agregare

Starea de agregare trebuie luată în considerație în evaluarea toxicității substanțelor chimice numai în cazul anumitor căi de pătrundere, de ex. toxicii gazoşi acționează rapid şi intens când pătrund pe cale respiratorie; toxicii lichizi pătrund în principal în organism pe cale cutanată (pe aceasta cale pătrund în proporție mică numai unii toxici aflați în stare gazoasa sau de vapori ca de ex. HCN, H_2S etc).

3.1.2.1.2. Masa moleculară şi gradul de dispersie

O masă moleculară mare şi un grad de dispersie mic influențează negativ viteza de absorbție a substanțelor chimice în organism.

În general, depăşirea unei anumite dimensiuni a moleculei toxicului îngreunează atingerea concentrației optime pentru inducerea unui efect în compartimentul "țintă", compartimentul interacțiunii toxicului cu receptorul.

Literatura de specialitate arată că o creştere treptată a mărimii catenei are ca rezultat o modificare a proprietăților biologice [15,16]. Astfel, pentru substanțele narcotice s-a stabilit că în seriile omologe, acțiunea narcotică creşte odată cu creşterea numărului de atomi de carbon; paralel cu intensificarea acțiunii narcotice se observă şi creşterea activității bactericide, hemolitice şi iritante nespecifice. După cum se observă în fig. 3.4, există serii în care activitatea biologică prezintă un maxim urmat de o scădere – curba A (de ex. variația acțiunii

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

narcotice la hidrocarburile alifatice saturate care arată o creştere pâna la C_5, apoi scade în progresie geometrică între $C_5 - C_8$; peste C_8 acţiunea narcotică continuă să scadă , dar nu se mai observă aceeaşi relaţie); serii în care activitatea creşte cu lungimea catenei – curba B (cazul creşterii toxicităţii alcoolilor alifatici de la etanol la pentanol); serii în care activitatea biologică prezintă variaţii în funcţie de paritatea atomilor de carbon – curba C; în alte serii omologe activitatea biologică arată o creştere pâna la un anumit număr de atomi de carbon, fără ca omologii superiori să devină mai activi – curba D şi serii în care activitatea biologică scade cu creşterea numărului atomilor de carbon, primul termen prezentând o activitate maximă – curba E (în acest caz pot fi menţionate efectele hematologice la hidrocarburile aromatice mononucleare sau efectul iritant al aldehidelor care prezintă o scădere de la formaldehida la butiraldehidă) [17].

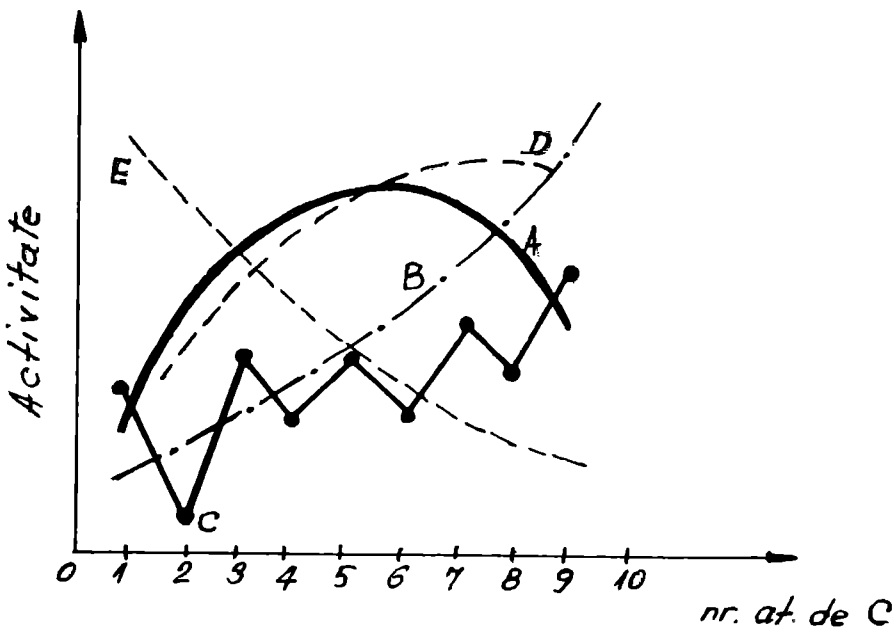


Fig. 3.4. *Variaţia activităţii biologice în funcţie de numărul atomilor de carbon*

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.1.2.1.3. Structura cristalină

Aproximativ 1/3 din compuşii organici prezintă polimorfism şi această proprietate are importanţă pentru comportamentul cinetic al substanţelor toxice.

În unele cazuri, forma amorfă a substanţei se dizolvă şi se absoarbe mai rapid în organism comparativ cu forma cristalină a aceleiaşi substanţe. În alte cazuri, substanţele sunt active numai sub forma amorfă deoarece forma cristalină nu poate fi absorbită datorită unei solubilităţi reduse, a unui punct de topire ridicat şi a unei stabilităţi chimice crescute.

3.1.2.1.4. Volatilitatea

Volatilitatea influenţează acţiunea toxica a substanţelor, astfel că la toxicităţi egale, riscul este mai mare la substanţele mai volatile.

Cunoaşterea volatilităţii (V) şi a toxicităţii absolute a unei substanţe (toxicitate monofazică) (M), permite calcularea pericolului de intoxicare (toxicitate bifazica) (B) după formula lui Lehman [18,19]:

$$B = M \times V \qquad (3.10)$$

După Lazarev [20] se disting doua cazuri:

a. cazul seriilor omologe cu funcţiuni puternic polare (alcooli de ex.) când toxicitatea bifazică creşte cu creşterea numărului de atomi de carbon (legea Richardson);

b. cazul seriilor omologe care nu conţin funcţiuni puternic polare (hidrocarburi, eteri) la care toxicitatea bifazica scade paralel cu creşterea numărului de atomi de carbon, deşi, în conformitate cu legea Richardson, toxicitatea monofazica creşte.

În tabelul nr. 3.1 este prezentată toxicitatea mono- şi bifazică a unor hidrocarburi clorurate [18]

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tabel 3.1 *Toxicitatea mono- şi bifazică a unor hidrocarburi clorurate*

Substanţa	Toxicitate monofazică relativă (M)	Volatilitate relativă (V)	Toxicitate bifazică (B)
Tetraclorura de carbon	1.0	4.1	4.1
Percloretilena	1.6	1.0	1.6
Tricloretilena	1.7	2.2	3.5
Dicloretilena	1.7	5.8	9.9
Cloroform	2.2	6.3	13.9
Pentacloretan	6.2	0.17	1.0
Tetracloretan	9.1	0.2	1.8

Se observă din tabelul 3.1 ca deşi toxicitatea unor hidrocarburi nu este ridicată (dicloretilena sau cloroform de ex.), datorită volatilităţii crescute, pericolul de intoxicare (toxicitatea bifazică) este mare; din contra, în cazul tetracloretanului, deşi toxicitatea este mare, dată fiind volatilitatea mică a acestei substanţe, pericolul de intoxicare este scăzut.

3.1.2.1.5. Lipo- şi hidrosolubilitatea

Proprietăţile de lipo- şi hidrosolubilitate precum şi raportul acestora influenţează cinetica de absorbţie şi / sau eliminarea toxicelor profesionale din organism.

Orice substanţă chimică total insolubilă nu poate fi absorbită în organism. Exceptând calea de administrare intravenoasă când o substanţă este introdusă total în sânge, căile de absorbţie respiratorie, cutanată etc. implică absorbţia la nivelul membranelor celulare.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Dizolvarea unui toxic în membrana celulară este condiționată de lipofilie, deoarece membrana este lipoidică. După traversarea membranei, moleculele substanței toxice difuzează în apa intracelulară, apoi în apa extracelulară (pentru a ajunge la locul de acțiune), motiv pentru care toxicul trebuie sa posede și proprietăți hidrofile. Pentru acest motiv, viteza cea mai mare de absorbție o vor avea moleculele cu un coeficient mediu de repartiție lipide / apă (numit coeficient Owerton – Meyer) [5,21]

Lazarev clasifică solvenții organici în 9 clase în funcție de valoarea coeficientului Owerton – Meyer (tabelul 3.2) [20]

Tabelul 3.2 *Clasificarea solvenților organici în funcție de coeficientul Owerton – Meyer*

Clasa	Tip de solvent	Indice de hidrosolubilitate	Coeficient Owerton – Meyer
I-III	alcool	mare	mic
IV-V	eter	mijlociu	mijlociu
VI-IX	benzen	mic	mare

În tabelul 3.3 sunt prezentate unele date privind coeficientul de repartiție lipide / apă al unor compuși și permeabilitatea acestora prin membrana celulară [7].

a. Patrunderea pe cale respiratorie

În cazul acestei căi de pătrundere, când coeficientul lipide / apă este mic, adică compusul este hidrosolubil, tip *alcool*, organismul are capacitate de absorbție mare, saturarea și eliminarea pulmonară au loc lent, producându-se intoxicații *cronice* (prin acumulare în timp). Când coeficientul lipide /apă este

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

mare, adică compusul are proprietăți liposolubile accentuate, tip *benzen*, saturarea și eliminarea pulmonară se produc rapid producându-se intoxicații *acute*. Totuși, la hidrocarburile alifatice și aromatice s-a constatat o eliminare treptată, din cauza acumulării în țesutul adipos.

Tabel 3.3. *Coeficientul de repartiție lipide / apă al unor substanțe toxice și permeabilitatea acestora prin membrana celulară*

Compus	Coeficient de repartiție (ulei de masline / apă)	Permeabilitate prin membrana celulară
1,2-Dihidroxipropan	570	24000
Propionamida	360	36000
Acetamida	83	15000
Glicol	50	12000
N-metiluree	44	1900
Uree	15	1000
Glicerol	7	210
Eritreitol	3	13
Sucroza	3	4

În tabelul 3.4 sunt prezentate unele date experimentale privind relația dintre coeficientul de repartiție lipide / apă și factorul de bioconcentrare la pești, FBC (raportul concentrației unei substanțe în pește și concentrația aceleiași substanțe în apa înconjuratoare) [7].

În fig. 3.5 este prezentată viteza de absorbție în cazul expunerii prin inhalare și atingerea saturației în sângele circulant pentru unele substanțe aflate sub forma de gaze și vapori [23] .

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tabelul 3.4. *Raportul între coeficientul de repartiție lipide / apă al unor clorbenzeni și factorul de bioconcentrare al acestora la pești*

Compus	Log coeficientului de repartiție lipide / apă	FBC
1,4- Diclorbenzen	3.53	1800
1,2,3- Triclorbenzen	4.20	13000
1,3,5-Triclorbenzen	4.20	14000
1,2,3,5-Tetraclorbenzen	4.94	72000
Pentaclorbenzen	5.69	260000

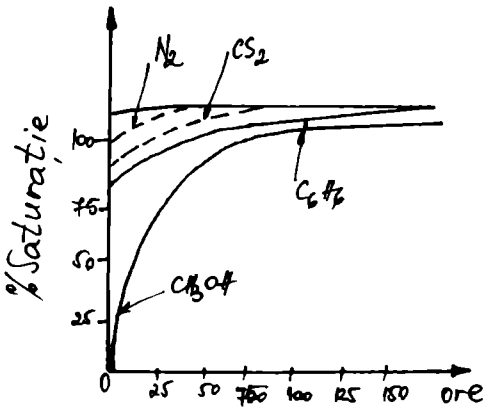


Fig. 3.5. *Absorbția în sânge a unor substanțe aflate sub formă de gaze și vapori*

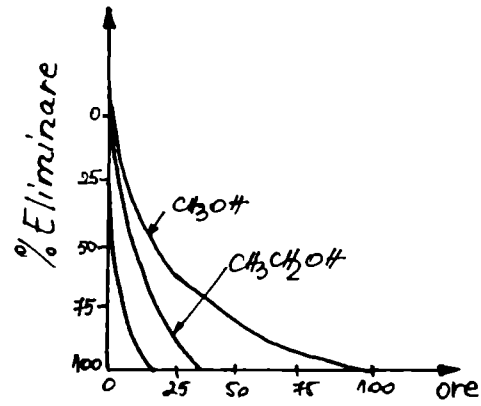


Fig. 3.6. *Eliminarea din sânge a unor substanțe după expunere prin inhalare*

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Se observă din fig. 3.5 că metanolul (coeficient lipide / apă - mic) saturează sângele treptat, în timp ce benzenul, azotul şi sulfura de carbon (coeficient lipide / apa - mare) ating rapid peste 75% din saturaţie.

În fig. 3.6 este prezentată viteza de eliminare din sânge a unor substanţe dupa expunere prin inhalare [23].

Din fig. 3.6 se constată că metanolul şi etanolul (coeficient lipide / apă - mic) se elimină lent. Eliminarea mai rapidă a etanolului comparativ cu metanolul se datoreşte oxidării rapide care îi măreşte capacitatea de eliminare sub forma de CO_2 în aerul expirat ; metanolul se elimină ca atare în aerul expirat în proporţie de 70%. Sulfura de carbon, puţin hidrosolubilă, se elimină rapid.

În funcţie de valoarea coeficientului lipide / apă, gazele pot produce efecte în diferite zone ale aparatului respirator [22] :

- gazele care sunt uşor solubile în apă se dizolvă în mucoasa membranelor nazale şi în tractul respirator superior, provocând iritaţia acestora.

La concentraţii atmosferice mici, o concentraţie relativ scazută a gazului respectiv va ajunge în plamâni datorită efectului «filtru » pe care îl au căile respiratorii superioare.

La concentraţii mari în aer ale noxei respective, căile respiratorii superioare vor absorbi numai o parte din gazele sau vaporii iritanţi, o bună parte ajungând în plamân (alveole) putând produce iritaţii severe şi chiar edem pulmonar. Este cazul acidului clorhidric, fluorhidric, amoniacului ;

- gazele insolubile în apa nu se dizolvă în căile respiratorii superioare, ajungând astfel cu usurinţă la nivelul căilor respiratorii profunde, ex. cazul fosgenului sau al dioxidului de azot ;

- gazele având solubilitate medie în apă (ca de ex. clorul şi ozonul) produc iritaţii atât la nivelul aparatului respirator superior, cât şi ale celui inferior ;

- unele gaze ca de ex. oxidul de carbon nu sunt iritante ale tractului respirator, dar sunt absorbite rapid în sange, producând intoxicaţii.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

b. *Patrunderea pe cale cutanată*

În acest caz, riscul de intoxicație este dependent atât de proprietățile liposolubile ale toxicului (care controlează tranzitul transcutanat) cât și de cele hidrosolubile (care determină transportul substanței în organism). De aceea toxicele cu coeficient lipide / apă - mediu, tip *eter*, prezintă un risc de absorbție cutanat crescut.

c. *Patrunderea pe cale digestivă*

Pot strabate membranele gastro–intestinale atât toxicele hidrosolubile (de ex. $BaCl_2$), cât și cele liposolubile (de ex. parationul).

3.1.2.1.6. Gradul de ionizare (pH, pK)

În funcție de pH-ul mediului și de tăria acido-bazică, diverse substanțe pot fi ionizate într-o oarecare masură, fapt care le imprimă afinitați pentru diverse medii ale organismului.

Astfel, acizii slabi (de ex. acidul salicilic) sunt neionizabili în mediu acid, fiind astfel absorbiți în stomac ; în schimb bazele slabe (de ex. alcaloizii) sunt puternic ionizate în mediu acid, fiind astfel absorbite în duoden (al cărui pH este alcalin).

Acizii și bazele puternice, care sunt puternic disociate la pH-uri fiziologice, nu traversează barierele lipoproteice celulare și intracelulare,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

neajungând deci în contact cu structurile subcelulare implicate în biotransformarile toxicelor [4,7].

Raportul între concentrația unui acid în forma ionizată (A^-) și neionizată (HA) poate fi calculat cu ajutorul formulei Henderson – Hasselbach, din valoarea pH-ului și a constantei de disociere, k_a [7] :

$$\log\frac{[A^-]}{[HA]} = pH - pk_a \qquad (3.11)$$

Similar, pentru baze se poate scrie :

$$\log\frac{[B^-]}{[BOH]} = pk_b - pH \qquad (3.12)$$

unde $[B^-]$ și [BOH] = concentrația bazei în forma ionizată și neionizată.

În tabelul 3.5 sunt prezentate efectele pH-ului apei de acvariu asupra valorilor CL_{50} la pește în cazul unor clorfenoli.

Tabel 3.5 *Efectul pH-ului asupra valorilor CL_{50} în cazul unor clorfenoli*

Compus	$CL_{50}(\mu mol \cdot l^{-1})$	
	pH = 6	pH = 8
4-Clorfenol (pk_a = 9.37)	60	71
Pentaclorfenol (pk_a = 6.69)	0.44	3.4

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.1.2.1.7. Exercitii si probleme

1. Tetraclorura de carbon şi tetracloretanul au toxicităţile monofazice relative 1.0; 9.1; iar volatilităţile lor relative sunt 4.1; 0.2. Calculaţi pericolul de intoxicare (toxicitatea bifazică) pentru aceşti clorderivaţi.

R: 4.1; 1.82

2. Cloroformul, tertacloetanul şi pentacloetanul au următoarele valori ale toxicităţii monofazice relative: 2.2; 9.1; 6.2. Volatilităţile lor relative sunt: 6.3; 0.2; 0.17. Să se calculeze pericolul de intoxicare (toxicităţile bifazice) pentru aceste substanţe.

R: 13.86; 1.82; 1.054

3. Dicloretilena, tricloretilena şi cloroformul au următoarele volori ale toxicităţilor monofazice relative (M), respectiv ale volatilităţii relative (V):

	M	V	Masa moleculară
Dicloretilena	1.7	5.8	96.90
Tricloretilena	1.7	2.2	131.35
Cloroformul	2.2	6.3	119.35

Să se calculeze valorile toxicităţii bifazice şi să se comenteze rezultatul ţinând cont şi de valorile date pentru masa moleculară. Să se compare cu valorile toxicităţii bifazice determinate experimental in tabelul 3.1

R: $B_{calc.}$ 9.86; 3.74; 13.86

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.1.2.2. Proprietăţi chimice corelate cu structura moleculară

3.1.2.2.1.Grupările chimice

Grupările chimice existente în molecula substanţelor determină tipul de efect biologic.

Grupările responsabile de toxicitate se numesc *toxofore* :

$= C =$, $S =$, $= C = C =$, $-NO_2$, $N = C =$, $- C \equiv N$, $\equiv P \begin{matrix} X \\ \diagup \\ \diagdown \\ Y \end{matrix}$, $- CH_3$, $- C_2H_5$.

Grupările care intensifică acţiunea toxică, numite *autotoxe* sunt :

$- NH_2$, $= C = C =$, C_6H_5, $= C_6H_4$, $= CH_2$, halogeni, oxizi inferiori, - OH.

Astfel, privind acţiunea narcotică a substanţelor toxice, se constată că aceasta creşte o dată cu introducerea în molecula hidrocarburii în locul atomilor de hidrogen, a unui grupări hidroxil, sau în locul atomilor de oxigen, sulf ; alcoolul metilic şi etilic au o acţiune narcotică mult mai accentuată decât metanul şi etanul. Introducerea halogenilor în moleculă şi mai ales a fluorului duce la creşterea însemnata a acţiunii narcotice. Comparând metanul (CH_4), clorura de metil (CH_3Cl), clorura de metilen (CH_2Cl_2) şi cloroformul (CH_3Cl) se constată ca acţiunea narcotică creşte paralel cu numărul atomilor de clor. Tetraclorura de carbon are acţiune narcotică mai mică decât cloroformul, dar cea mai mare toxicitate.

În afara efectelor narcotice, introducerea clorului în moleculă accentuează toxicitatea compusului cu apariţia rapidă a unor modificari histopatologice grave în organele parenchimatoase (ficat, rinichi, plamâni, splina etc.).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În cazul hidrocarburilor clorurate cu legături multiple (tricloretilena, clorbutadiena, diclorbutena) nu se observă acelaşi tip de acţiune.

3.1.2.2.2. Izomeria

Izomeria influenţează *intensitatea* şi *tipul* de acţiune toxică.

Privind *izomeria de catena*, se poate afirma, ca regula generală, că substanţele organice neramificate sunt mai toxice decât cele cu lanţ ramificat [1]. Astfel, ramificaţia catenei atomilor de carbon la hidrocarburi slăbeşte acţiunea narcotică.

Hidrocarburile ciclice care prezintă o singură catenă laterală lungă au o acţiune toxică mai puternică comparativ cu izomerii lor care conţin două sau mai multe catene laterale scurte.

Izomeria de poziţie poate fi de asemenea corelată cu un anumit tip de acţiune toxică. În acest sens, trebuie amintit faptul că în naftilamine poziţia ß a radicalului aminic este esenţială pentru efectul cancerigen.

Izomeria optică şi geometrică influenţează acţiunea toxică a substanţelor chimice prin dirijarea stabilirii legăturilor substanţă toxică – receptor.

În organism, numai apa, sărurile minerale şi câteva substanţe organice nu prezintă activitate optică. În schimb, receptorii fiind substanţe proteice, sunt, de obicei, optic activi. În cazul când substituenţii atomului de carbon asimetric al substanţei toxice nu participă la interacţia cu receptorul între izomerii D şi L ai acesteia există diferenţe mici sau nule ale acţiunii toxice.

Izomerii geometrici, ca urmare a distanţei dintre grupările reactive, pot induce variaţii ale intensitaţii legaturii substantă toxică – receptor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.1.2.2.3. Tipul legăturilor chimice

Tipul legăturilor chimice existente în substanţele toxice, dar mai ales tipul legăturilor chimice stabilite între substanţele toxice şi diverse molecule din organism au o influenţă importantă asupra manifestării activitaţii toxice.

Astfel, existenţa legăturilor multiple în molecula hidrocarburilor alifatice conduce la creşterea acţiunii lor narcotice. De ex. acetilena are acţiune narcotică mai pronunţată comparativ cu etena, iar etena are actiune narcotică mai mare decât etanul. Acelaşi fenomen se observă şi în cazul hidrocarburilor ciclice cu numar mai mic de 6 atomi de carbon. În afara acţiunii de narcoză, existenţa legăturilor multiple în molecula toxicului duce la apariţia acţiunii iritative [11,12].

Privind legăturile stabilite între toxice şi diverse molecule ale organismului, s-a constatat că acestea pot fi electrostatice, covalente, de hidrogen, van der Waals sau hidrofobe [7,24,25,26]

Legarea substanţelor toxice de *proteinele din sânge* are o influenţă importantă asupra toxicităţii acestora deoarece duce la o scădere a concentraţiei substanţei libere din sânge, fapt care influenţează activitatea ei biologica. Albumina, proteina plasmatică cea mai abundentă, leagă predominant acizii şi bazele organice, deoarece la pH=7,4 (pH-ul sângelui), aceasta posedă atât sarcini pozitive cât şi negative. Legăturile stabilite sunt de natură electrostatică.

Proteinele plasmatice au afinitate mare pentru compuşi hidrofobi. În acest caz au loc interacţii « hidrofobe » cu acele părţi ale structurii proteice care sunt nepolare. Interacţiile stabilite în cursul metabolizării toxicului depind de *enzima* conţinută de substrat. Gradul de metabolizare al unui compus depinde de activitatea enzimei şi de reactivitatea substanţei. Dacă centrul activ al enzimei este hidrofob, vor domina interacţiile hidrofobe. Dimpotrivă, dacă centrul activ al enzimei este polar, vor avea loc interacţii bazate pe legături ionice, legături de hidrogen sau van der Waals. În general, între substanţele toxice şi moleculele ţintă, interacţiile se bazează pe stabilirea unor legaturi ionice, de hidrogen, van der

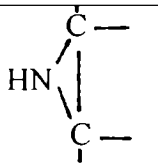
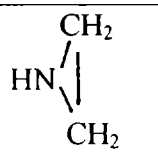
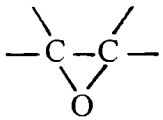
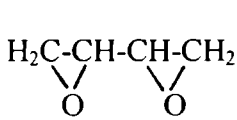
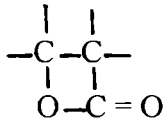
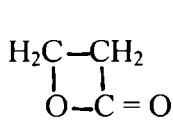
https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Waals, hidrofobe sau covalente. Un exemplu privind formarea legăturilor covalente îl constituie reacţia între grupele electrofile şi nucleofile. Electrofilii sunt molecule ce conţin un atom cu deficit de electroni, având de aceea o sarcină pozitivă, parţiala sau totală. Ei reacţionează cu compuşi nucleofili, care conţin atomi cu surplus de electroni, formându-se o legatură covalentă, ireversibilă. Un grup important de electrofili îl constituie compuşii de alchilare cu structura generală R-X (unde R este un radical alchil). Aceştia reacţionează cu grupe nucleofile (Nu), formând o legatură covalentă:

$$R\text{-}X + Nu \rightarrow X + R - Nu$$

Acest tip de reacţie este cunoscută sub numele de *substituţie nucleofilă*. În timpul reacţiilor de substituţie nucleofilă se formează un ion carboniu (R^+).

Tabel 3.6 *Exemple de compuşi care reacţionează direct cu grupe nucleofile*

Clasa de compuşi	Structura generală	Exemplu	Nume
Imine			Etilenimina
Epoxizi			Diepoxibutan
Lactone			β-propiolactona
Esteri sulfat	$(RO)_2SO_2$	$CH_3OSO_2OCH_3$	Dimetilsulfat
Hidrocarburi halogenate	· -	CH_2=CH-CH_2Cl	Clorura de alil

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Interacția dintre o serie de compuși mutageni (și adesea și cancerigeni) cu macromolecula ADN se bazează pe stabilirea unor legaturi covalente ca urmare a reacției dintre grupele nucleofile ale ADN (NH_2, NH și atomi O ai bazelor purinice și pirimidinice) și grupe electrofile ale agenților mutageni. În urma interacției are loc modificarea structurii ADN (de unde și denumirea de compuși mutageni). Proteinele sunt, de asemenea, bogate în grupe nucleofile, capabile să reacționeze cu agenții electrofili. În tabelul 3.6 sunt prezentate o serie de grupe de compuși care pot reacționa cu compuși nucleofili [5].

În general, electrofilii « slabi » tind a reacționa cu nucleofili slabi, iar electrofilii « puternici » tind a reacționa cu nucleofili de aceeași tărie. În tabelul 3.7 sunt date câteva exemple de grupe electrofile și nucleofile și variația tăriei acestora.

Tabel 3.7 *Variația tăriei caracterului electrofil și nucleofil în cazul unor grupări electrofile și nucleofile*

Electrofili	Nucleofili
Carbon în legături duble polarizate (ex. chinone, cetone α - β – nesaturate)	Sulf în tioli (ex. resturi cisteinil în proteine)
Carbon în epoxizi, halogenuri de aril	Sulf în metionina
Ioni de carboniu (aril)	Azot în grupe amino primare și secundare din proteine
Ioni de carboniu (benzil)	Azot din grupe amino din bazele purinice ale acizilor nucleici
Ioni de carboniu (alchil)	Oxigen din bazele purinice și pirimidinice ale acizilor nucleici
	Oxigen fosfat din acizii nucleici

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În lucrările sale, Krishana şi colab. [27,28] arată că în cazul necrozei celulei hepatice induse de derivaţii halogenaţi ai benzenului, un rol hotarâtor îl constituie formarea unor legături covalente ale acestora cu proteinele ficatului.

Dată fiind complexitatea sistemelor biologice, există puţini compuşi pentru care se cunoaşte modul de acţiune la nivel molecular.

Tabelul 3.8 sumarizează diferitele tipuri de interacţii posibile între poluanţi şi moleculele organismului şi proprietăţile fizico-chimice care influenţează aceste interacţii; de asemenea, tabelul arată parametrii care se utilizează pentru compararea tăriei acestor interacţii (o serie dintre aceşti parametri vor fi discutati în cap. 5).

Tabel 3.8 *Tipuri de interacţii poluant-molecule biologice, proprietăţi fizico-chimice determinante şi parametrii utilizaţi pentru descrierea acestor interacţii*

Interacţie (reacţie)	Proprietate fizico-chimică	Parametrul utilizat pentru descrierea interacţiei
1. interacţie hidrofobă	hidrofobicitate	coeficient de repartiţie octanol-apa
2. interacţie electrostatică		
ion-ion	sarcina pe atomi	sarcina/const. Hammett
ion-dipol	sarcina pe atomi	sarcina/const. Hammett
dipol-dipol	sarcina pe atomi	sarcina/const. Hammett
3. interacţie prin legături de hidrogen	sarcina pe atomi	sarcina/const. Hammett
4. interacţie prin legături van der Waals	polarizabilitate	refracţia molara
5. impiedicare sterică	dimensiunile moleculelor	raza van der Waals/const.Taft
6. interacţie bazată pe legatura covalentă	mezomerism	const.Hammett/constantele vitezei de reacţie

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Din punct de vedere al tipului de interacţie toxic-receptor, în literatură, substanţele toxice au fost impărţite în două categorii [15,21]:

1. toxice care exercită o acţiune nespecifică, acţionând în general ca inhibitori ai funcţiilor fiziologice; acest tip de acţiune este numită toxicitate *fizică*, efect narcotic, nespecificitate structurală sau activitate neselectivă. Toxicitatea fizică nu este asociată cu interacţii specifice ale toxicelor cu receptorii sistemelor biologice. Toxicitatea fizică este caracteristică unor neelectroliti şi este raportată la diverse proprietăţi fizice ale toxicului ca de ex. solubilitatea vaporilor în apă, coeficientul de distribuţie ulei / apă etc.

2. toxice care exercită o acţiune specific *chimică* ce se manifestă prin reacţiile lor specifice cu receptorii sistemelor biologice.

Acţiunea toxică a celor mai multe substanţe include atât o toxicitate fizică, nespecifică, cât şi o toxicitate specifica, chimică.

3.1.2.2.4. Structura electronică

Aplicarea rezultatelor chimiei cuantice pentru stabilirea corelaţiilor între structura moleculară şi activitatea biologică (toxicitatea) a poluanţilor chimici reprezintă astăzi o metodă tot mai frecvent utilizată în toxicologie.

Utilizând diverse metode cuantice de calcul, în funcţie de complexitatea sistemului studiat precum şi de limitele impuse de puterea calculatoarelor, s-au calculat energiile nivelelor electronice şi distribuţiile electronilor în moleculă, precum şi diferiţi parametri de reactivitate chimică pentru un număr mare de substanţe chimice implicate în sistemele biologice.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Parametrii electronici au fost corelaţi în cazul poluanţilor atmosferici cu proprietăţi cum sunt efectul mutagen, cancerigen şi embriotoxic. Cele mai multe date existente se referă însa la efectul cancerigen. Astfel, analiza datelor de literatură arată că pentru explicarea activităţii cancerigene a hidrocarburilor policiclice condensate cea mai raspandită teorie chimică este *teoria regiunilor diferentiate d.p.d.v. al reactivitatii* elaborată de soţii Pullman (fig. 3.7) [4,29,30]. Conform teoriei Pullman, în structura acestor compuşi sunt implicate două regiuni:

- regiunea k, care este cea mai reactivă regiune a hidrocarburii cancerigene şi prin care trebuie să se stabilească o legatură covalentă între hidrocarbură şi receptor. Această regiune se defineşte ca fiind legatura C-C cu cel mai mare ordin de legătura π şi cei mai mari indici de valenţă liberă la atomii de la capetele acestei legături. Această regiune condiţionează apariţia activitaţii cancerigene.

- regiunea L, micşorează sau anulează efectul regiunii k şi se defineşte ca fiind formată de perechea de atomi de carbon în para cu cea mai mare afinitate pentru reacţiile de adiţie.

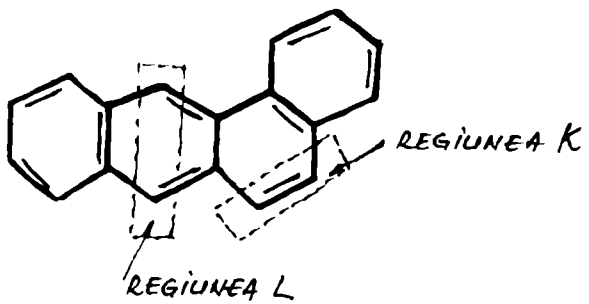


Fig. 3.7. *Regiunile K şi L pentru benzantracen*

Pentru caracterizarea reactivităţii zonei k se utilizează doi indici electronici:

1. suma indicelui de legătură π şi a indicilor de valenţă liberă a celor doi atomi de carbon de la capetele legăturii (notată convenţional R_K);

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

2. al doilea indice se aplică pentru ambele regiuni şi este dat de suma energiei de localizare a electronilor π la atomii legăturii date şi a energiei de localizare a legăturii π a atomilor respectivi (se notează convenţional cu EL_K, respectiv EL_L).

Regiunea k pentru hidrocarburile aromatice policiclice se caracterizează printr-o valoare a lui R_K care nu depăşeste limita 1,28 şi printr-o valoare a indicelui EL_K sub 3,31. Astfel s-a putut explica de ce 1,2-benzantracenul (R_K=1,283) are activitate cancerigenă mai mare decât 8-metil-3,4-benzfenantrenul (R_K=1,309).

Dacă indicele de energie de localizare pentru regiunea L depăşeste valoarea 5,66 β, activitatea cancerigenă a substanţei dispare complet.

Pentru unii derivaţi ai hidrocarburilor policiclice condensate substituiţi în regiunea k (ca de ex. 4-fluor-10-metil-1,2 benzantracen) nu se mai constată o bună corelaţie a valorilor indicilor electronici R_K şi EL_K cu efectul cancerigen [31]. Pentru coloranţii azoici şi derivaţii stilbenului cu proprietăţi cancerigene (cum este de ex. dimetilbenzantracenul), regiunea k este reprezentată de gruparea –N=N- sau –HC=CH- care leagă între ele cele două cicluri aromatice (fig. 3.8).

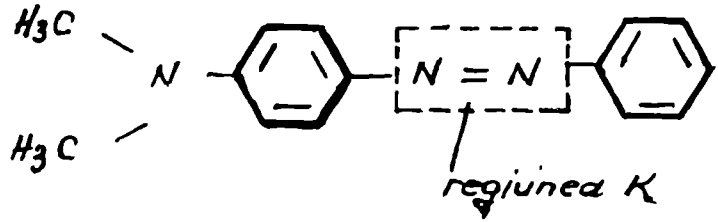


Fig. 3.8. *Regiunea K pentru dimetilbenzantracen.*

Reactivitatea grupei –N=N- este exprimată de parametrul electronic EP ce caracterizează energia sistemului π-electronic al celor doi atomi de azot. Totuşi o bună corelaţie între indicele EP şi activitatea cancerigenă s-a constatat numai la cei 5 derivaţi metilsubstituiţi ai ciclurilor benzenice [32].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Unii autori [33,34] au emis teoria că potențialul cancerigen depinde de *proprietățile redox* ale substanței cancerigene (capacitatea de acceptare / donare de electroni). Această teorie este în concordanța cu teoria metabolică [35] care considera că substanțele cancerigene inhibă lanțul transferului de electroni în procesul fosforilarii oxidative. Astfel, sunt favorizate celulele care își procură o cantitate cât mai mare de energie prin glicoliză; în cursul unor procese naturale de proliferare sunt selectate aceste celule cu caracteristici metabolice specifice pentru celulele canceroase. Ușurința donării și acceptării de electroni (care se caracterizează printr-un potențial polarografic de oxidare E^{OX} cât mai puțin pozitiv și un potențial de reducere E^{RED} cât mai puțin negativ) se corelează destul de bine cu activitatea cancerigenă.

În tabelul 3.9 sunt prezentați unii indici electronici de reactivitate și potențialul cancerigen pentru unele hidrocarburi și azoderivați [30].

Tabel 3.9 *Valorile R_K, EL_K, EP și potențialul cancerigen al unor toxici industriali*

Compus	Activit. cancerig	R_K ; EP*	EL_K (unități)	EL_L (β)	E^{OX} (volți)	E^{RED} (volți)
1,2-Benzan-tracen	+ +	1.283	3.29	5.53	1.33	- 2.11
3,4-Benzacridina		1.260				
Azobenzen	-	-	-	-	1.89	- 145
p-Dimetil-aminoazo-benzen	+ +	- 0,670*	-	-	0.86	- 1.58
2-Metil-p-dimetil-aminoazobenzen	_	- 0.675*	-	-	0.80	- 1.60
3'-Metil-p-dimetil-aminoazobenzen	+ + +	-0.748*	-	-	-	-
3'-Metoxi-p-dimetil-aminoazobenzen	+ + +	-0.670*	-	-	-	-
3'-F-p-dimetil-aminoazo-benzen	+ + +	-0.670*	-	-	0.90	-1.50
1,2-Benzpiren	+ + + +	-	3.23	-	1.10	-1.95

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Aspecte ale relației structură chimică – activitate mutagenă / cancerigenă au fost studiate și pentru alte clase de compuși ca de ex. olefine halogenate, epoxizi și analogi alchilici [36], halogenuri de alchil [37], hidrazine [38] și nitrozamine [39].

Monoepoxizii alifatici cu epoxid terminal sunt suspectați a avea potențial mutagen / cancerigen.

Prezența unei grupe funcționale reactive (cazul epiclorhidrinei) sau a unei duble legături (cazul glicilaldehidei) lânga gruparea epoxi , sporește caracterul cancerigen al grupei epoxi. Toate etilenele clorurate sunt metabolizate în epoxizi, în prima treaptă.

Activitatea mutagenă / cancerigenă a olefinelor clorurate diferă substanțial. Pentru olefine cu atomi de clor situați asimetric, activitatea cancerigenă variază astfel: clorura de vinil > 1,1-dicloretilena > tricloretilena. În olefinele cu atomi de clor situați simetric, aceasta activitate nu a fost observată [40].

Se presupune că analogii etilenici, vinilici și alchilici pot fi potențial cancerigeni deoarece sunt, ca și compușii aromatici, transformați în oxizi cu ajutorul monooxigenazelor microzomale.

Agenții bifuncționali de alchilare manifestă proprietăți cancerigene mai pronunțate comparativ cu cei monofunctionali, datorită simetriei lor care le conferă o reactivitate crescută (de ex. bis (clormetil) eterul în comparație cu izomerul său, clormetilmetil eterul).

Desi până în prezent nu se cunosc exact caracteristicile structurale responsabile de activitatea mutagenă / cancerigenă a unei substanțe, totuși se poate concluziona că pentru ca o hidrocarbură aromatică policiclică să aibă proprietăți cancerigene aceasta trebuie să aibă o *geometrie apropiată de perechile de baze ale acizilor nucleici, o grosime moleculară sub 4 Å* și *o bună capacitate de a accepta / ceda electroni*. De asemenea, activitatea cancerigenă este favorizată

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

dacă substanța considerată sau unul din metaboliții acesteia are *caracter electrofil*, fiind astfel capabilă sa reacționeze cu centrii nucleofili ai macromoleculei ADN.

O serie de lucrări au studiat posibilele corelații între structura electronică și toxicitatea halogeno-benzenilor. Astfel, Pederson și Carlson [41] consideră că mecanismul producerii porfiriei cutanate de către hexaclorbenzen se bazează pe formarea unui complex cu transfer de sarcină între hexaclorbenzen și compușii porfirinici, formarea acestuia fiind favorizată de dimensiunile moleculare asemanatoare ale celor doi compuși, polarizabilitatea lor pronunțată și structura plană a acestora.

O contribuție importantă la studiul corelației structură electronică – activitate biologică în cazul derivaților clorurați ai benzenului a adus-o Sahini și colab. [42]. Folosind metodele Hűckel și SCF-CI în aproximația semiempirică Pariser-Parr-Pople, autorii au calculat un set de parametri de structură electronică unitar și consistent (densitați de sarcină π, densitați de sarcină σ, energia primului orbital molecular liber, densitatea electronului de frontiera pentru reacțiile de substituție electrofilă, nucleofilă și radicalică, superdelocalizabilitatea pentru reacțiile de substituție electrofilă, nucleofilă și radicalică și autopolarizabilitațile atom-atom) pentru toți derivații clorurați ai benzenului. Comparând acești indici de reactivitate cu datele din literatura de specialitate privind toxicitatea acestor compuși (log DL_{50}) s-a gasit o bună corelație între variația densitații de sarcină pe atomul de clor și log $1/DL_{50}$. De asemenea, sarcina atomului de carbon pe care este grefat halogenul se corelează liniar cu log $1/DL_{50}$. Autorii au constatat corelații între log $1/DL_{50}$ și sarcina pozițiilor cu cea mai mare contribuție în meta de la atomii de clor. S-a concluzionat că aceste corelații cu densitațile de sarcină în moleculă sugerează că interacția între moleculele clorbenzenilor și receptor ar putea fi în principal de natură electrostatică, fară transfer de sarcină.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.2 PROPRIETĂŢI FIZICO-CHIMICE CARE DETERMINĂ EFECTELE BIOLOGICE ALE PULBERILOR INDUSTRIALE

3.2.1 Pulberi silicogene

3.2.1.1. Mărimea şi proprietăţile adsorbtive ale particulelor

Este unanim acceptat că bolile profesionale sunt produse numai de particulele de pulberi care pătrund şi sunt reţinute în alveole.

Pentru orice tip de pulbere (silicogenă, de azbest, metalică, organică etc.) au fost formulate definiţii pentru diferitele fracţii care pătrund în aparatul respirator. Aceste definiţii sunt valabile atât pentru pulberile prezente în aer sub formă de particule, cât şi pentru cele aflate sub formă de fibre, deoarece aceste definiţii sunt formulate în termeni de particule (adică dimensiunea acestora este caracterizată de diametrul aerodinamic). Astfel, în conformitate cu ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) şi Comitetul European pentru Standardizare (EN 481 / 1993) [43, 44, 45, 46] aceste definiţii sunt urmatoarele :

- fracţia *inhalabilă* de praf corespunde fracţiei total inspirabile şi reprezintă cantitatea de pulberi cu risc pentru sănătate atunci când acestea sunt reţinute oriunde în aparatul respirator ;
- fracţia *toracica* de praf reprezintă cantitatea de pulberi cu risc pentru sănătate la reţinerea lor în aparatul respirator în regiunea bronşiilor mici ;
- fracţia *respirabilă* de praf reprezintă cantitatea de materiale cu risc pentru sănătate

atunci când sunt reţinute în regiunea neciliată a schimbului de gaze (alveole).

Au fost, de asemenea, definite eficienţa de reţinere a unui dispozitiv de recoltare şi curbele de reţinere pentru aceste trei fracţii de praf.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Eficiența de recoltare a unui dispozitiv a fost definită ca fiind fracțiunea de particule reținute pe filtru, indiferent de orientarea filtrului față de direcția curenților de aer și este dată pentru *fracția inhalabilă* de relația [44, 47, 48] :

$$E_i=50(1+e^{-0,06d_a})\pm 10 \qquad (3.13)$$

unde : E_i=eficiența de colectare (%) pentru fracția inhalabilă

d_a=diametru aerodinamic al particulelor (μm) definit ca fiind diametrul unei sfere cu densitatea 1g/cm^3, având aceeași viteză limită de cădere liberă în câmp gravitațional ca și particula studiată.

Pentru *fracția toracică*, eficiența de recoltare, E_t, este dată de relația :

$$E_t=E_i[1-F(x)] \qquad (3.14)$$

unde F(x)=funcția de probabilitate cumulată a variabilei normale standardizate x

$$x=\frac{\ln(d_a/D)}{\ln s} \qquad (3.15)$$

cu D=11,64 μm și s=1,5

Pentru *fracția alveolară*, eficiența de recoltare, E_a, este dată de relația :

$$E_a=E_i[1-F(x)] \qquad (3.16)$$

unde F(x) și x au aceeași semnificație ca în cazul fracției toracice, iar D=4,25 μm și s=1,5.

Curbele teoretice de reținere pe filtre recomandate de ACGIH sunt caracterizate de o eficiență de reținere de 50% la diametrul aerodinamic de 10±1 μm pentru fracția toracică și de 4±1μm pentru fracția respirabilă ; eficiența de reținere a prafului respirabil este zero la valoarea de peste 10 μm a diametrului aerodinamic (tabelul 3.10) [44,49].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tabel 3.10 *Curbele teoretice de reținere pe filtre pentru cele trei fracții de praf: respirabilă, toracică și inhalabilă*

Diametrul aerodinamic al particule-lor (μm)	Praf in halabil (%)	Diametrul aerodinamic al particule-lor (μm)	Praf toracic (%)	Diametru aerodinamic al particule-lor (μm)	Praf respirabil (%)
0	100	0	100	0	100
1	97	2	94	1	97
2	94	4	89	2	91
5	87	6	80,5	3	74
10	77	8	67	4	50
20	65	10	50	5	30
30	58	14	23	6	17
40	54.5	16	15	7	9
50	52.5	18	9.5	8	5
100	50	25	2	10	1

OSHA (Occupational Safety and Health Administration) recomandă o curbă de reținere pentru care eficiența de reținere pentru fracția respirabilă sa fie zero incepând de la o valoare a diametrului aerodinamic de 15 μm [50, 51, 52] ; în schimb Convenția de la Johanesburg (1959) recomandă ca eficiența de reținere a prafului respirabil să fie 50% pentru un diametru aerodinamic de 5 μm și zero pentru valoarea de peste 7 μm a diametrului aerodinamic [53,54]

Dupa ISO (International Standards Organization) [55] eficiența de reținere a prafului respirabil este zero la o valoare a diametrului aerodinamic de peste 7 μm.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Recent s-a realizat un acord între ACGIH şi Convenţia Europeană definindu-se cele trei fracţii de praf astfel [57,58] :

- fracţia inhalabilă cuprinde particule cu diametrul aerodinamic între 1-100 μm ;
- fracţia toracică cuprinde particule cu diametrul aerodinamic între 0,1-35 μm ;
- fracţia respirabilă cuprinde particule cu diametrul aerodinamic între 0,1-15 μm.

În conformitate cu recomandările ACGIH şi ale Comitetului European pentru Standardizare, se poate concluziona că eficienţa de reţinere a prafului respirabil este sub 1 la o valoare a diametrului aerodinamic de 10 μm (cu alte cuvinte, particulele de praf respirabile trebuie sa aibă o valoare a diametrului aerodinamic sub 10 μm).

Asa cum s-a amintit mai sus, diametrul aerodinamic al particulelor guvernează atât pătrunderea cât şi reţinerea (depozitarea) acestora în aparatul respirator.

Depozitarea pulberilor în tractul respirator se bazează pe 5 principii fizice: impact, sedimentare, precipitare electrostatică, interceptare şi translocare [55].

Posibilitatea de *impact şi sedimentare* este determinată de diametrul aerodinamic al particulelor; impactul, în general, are loc la limita inferioară a unui jet de aer în căile aeriene superioare unde viteza curentului de aer este mai mare, iar particula este propulsată în afara curentului , pe suprafaţa epiteliului respirator, mai ales la nivelul bifurcaţiilor. În schimb, sedimentarea este favorizată de viteza scazută a curentului de aer, de un timp de staţionare mai lung în căile pulmonare inferioare şi de dimensiunea mică a acestor căi.

Precipitarea electrostatică depinde de raportul între sarcina electrică a particulelor de pulberi şi traseul parcurs de acestea în căile aeriene.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Interceptarea depinde de aliniamentul particulelor axei de curgere de-a lungul unei căi aeriene: o particulă a cărei orientare de curgere diferă de aliniamentul axial are o probabilitate sporită de depunere prin interceptare. Particulele singulare tind a se alinia axei de curgere, în timp ce aglomerările de particule au mai mult orientari randomizate. Aliniamentul este modificat la bifurcaţii dat fiind curentul secundar format, ceea ce sporeşte posibilitatea de depozitare.

Translocarea se referă la mişcarea particulelor de-a lungul suprafeţelor epiteliale pentru a se depozita la nivelul bronşiilor, sau la patrunderea prin epiteliu în interstiţiul pulmonar şi căile limfatice.

Din cele relatate, reiese şi importanţa altor proprietăţi fizico-chimice implicate în pătrunderea pulberilor în aparatul respirator şi anume incărcătura electrică. *Sarcina electrică* a particulelor se datoreşte fie adsorbţiei ionilor existenţi în atmosferă, fie incărcăturii electrostatice rezultate prin frecare în procesul formării pulberilor.

Proprietăţile *adsorbtive* ale pulberilor se manifestă şi faţă de gaze, fapt ce are importanţă asupra diferitelor reacţii chimice din organism (mai ales atunci cand gazele adsorbite sunt toxice).

3.2.1.2 Structura cristalină

Numai formele cristaline ale SiO_2 liber (nelegat în silicaţi) sunt silicogene. Dintre formele cristaline, cele mai agresive sunt cuarţul, tridinitul şi cristobalitul (în ordinea descrescânda a puterii fibrogene [57].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.2.1.3 Structura electronică

Elementul fundamental în declanşarea şi întreţinerea procesului silicotic îl reprezintă fagocitarea particulei de SiO_2 de către macrofagul pulmonar, urmată de necroză (moartea) acestuia cu eliberarea particulei de SiO_2, care apoi este inglobată de alt macrofag s.a.m.d.

În ultimii ani au apărut tot mai multe cercetări care au studiat mecanismul interacţiei primare între macrofag şi particulele de SiO_2, încercând să arate care sunt proprietăţile SiO_2 responsabile de efectul lui citotoxic şi fibrogen.

O teorie electronică dezvoltată în ultimii ani – *teoria acţiunii catalitice a SiO_2 asupra membranelor celulare sau teoria semiconductorilor* a demonstrat existenţa unor relaţii între mărimea efectului citotoxic al pulberilor silicogene şi activitatea catalitică a particulelor de SiO_2, care este determinată la rândul ei de poziţia energetică a unor nivele electronice existente în structura SiO_2 [59, 60, 61, 62, 63, 64, 65].

Teoria semiconductorilor se bazează pe teoria electronică a catalizei care admite un model cu benzi al semiconductorilor (din care face parte şi SiO_2) (fig. 3.9).

În semiconductorii puri (ideali), numiţi şi intrinseci, în zona interzisă nu se găsesc electroni. În semiconductorii impuri (reali) numiţi şi extrinseci, în zona interzisă se găsesc impurităţi reprezentate de ioni metalici sau goluri; prezenţa ionilor metalici sau a golurilor se traduce prin inducerea unor nivele electronice adiţionale în zona interzisă, situate în vecinătatea benzii de valenţă şi a benzii de conducţie.

În cazul reţelei cristalului de SiO_2 – element etiologic al silicozei – se constată ca prezenţa în reţea a ionilor metalici cu valenţa mai mare decât 4 (4 fiind valenţa atomului de siliciu) induce nivele electronice situate sub banda de conducţie, numite nivele *donoare* (sau centri de captură electronică); prin

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

excitarea electronilor din aceste nivele donoare, are loc cedarea de electroni în banda de conducție, electroni care prin deplasare asigură conductibilitatea (semiconductorii se numesc de tip n – negativi, cu conductibilitate normală , prin electroni) (fig. 3.9b). Prezența ionilor metalici trivalenți în rețeaua SiO_2 se traduce prin prezența unor nivele electronice *acceptoare* în zona interzisă, situate deasupra benzii de valență; prin excitarea acestor nivele acceptoare, semiconductorul cedează electroni din banda de valență pe nivelele adiționale acceptoare, astfel că în banda de valență rămân goluri, care, deplasându-se asigură conductibilitatea (semiconductorii se numesc de tip p – pozitivi, cu conductibilitate anormala, prin goluri) (fig. 3.9c)

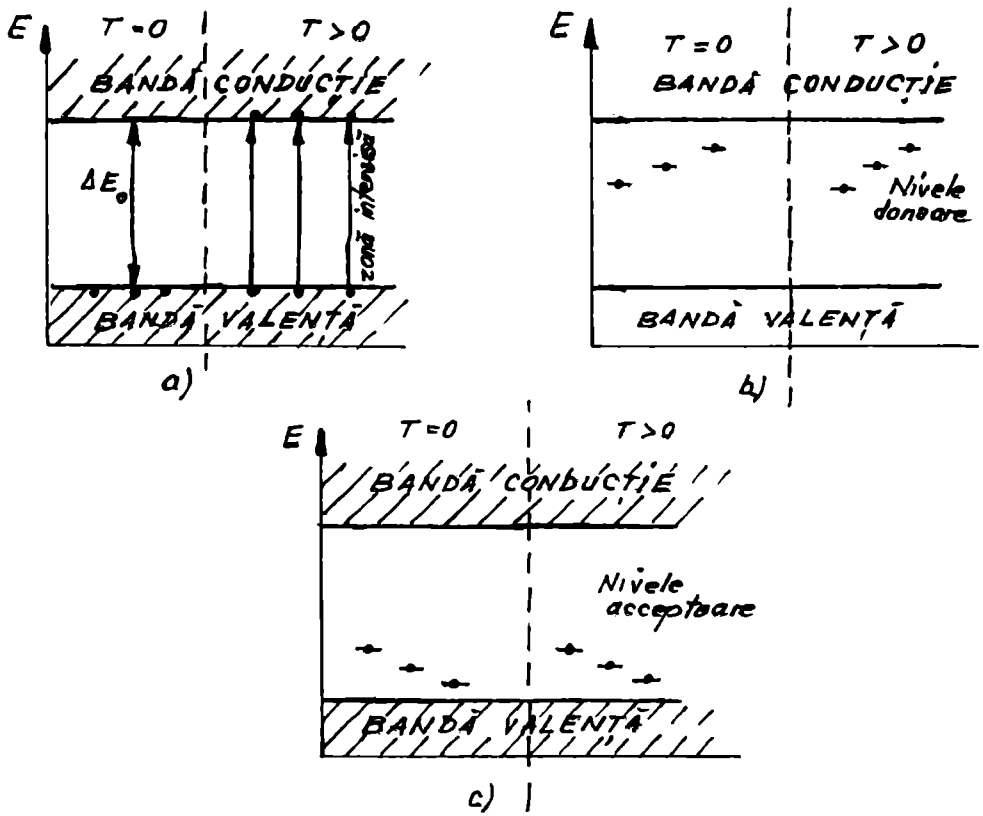


Fig. 3.9. *a) Modelul benzilor din fizica stării solide;*

b) pentru semiconductori cu impurități de tip donor; c) de tip acceptor

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Cercetări din literatură [59, 60, 61, 62, 63, 64, 66, 67] au evidențiat, *in vitro*, imediat după contactul particulei de SiO_2 cu membrana macrofagului pulmonar, un transfer de electroni de la particula de SiO_2 la membrana macrofagului (maximum de transfer este atins la 5 minute după contact). În urma acestui transfer se produce perturbarea reacțiilor biochimice la nivelul membranelor celulare (membrana macrofagului). Electronii care participă la transfer provin de pe nivelele electronice donoare ale particulei de SiO_2 și necesită energii de activare de ordinul a 0,5 eV. Aceste energii ar putea proveni din reacțiile redox ale lanțului de respirație celulară (porțiunea finală citocromică, adică complexul IV Green, unde există un transfer monoelectronic). Deci, macrofagul activează particula de SiO_2, activare care apoi induce un transfer de electroni de la particula de SiO_2 la membrana macrofagului, transfer care prejudiciază macrofagul.

Existența acestui transfer de electroni între SiO_2 și membrana celulara s-a demonstrat prin măsuratori de chemiluminiscentă [61, 67].

Compararea rezultatelor testelor de citotoxicitate cu mărimea energiilor de activare ale centrilor de captură elctronică pe un numar de 60 probe de pulberi silicogene, de origini mineralogice diferite și conținut diferit în ioni metalici, a arătat că probele de praf ai căror centri de captură electronică au energii de activare de ordinul a 0,5 – 0,6 eV sunt puternic citotoxice; probele de praf cu energii mai mari sau mai mici decât această valoare au un efect de citotoxicitate mai mic [67].

Poziția energetică a centrilor de captură electronică este determinată de originea mineralogica, adică de condițiile mecanice, termice și radioactive de formare a pulberilor în rocile magmatice. Experimente *in vitro* au arătat că probele de origini mineralogice diverse au manifestat diferențe considerabile privind mărimea efectului citotoxic. Mai mult, poziția energetică a centrilor de captură electronică poate fi influențată printr-un tratament chimic (cu soluție

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

fierbinte de NaOH de ex.), termic sau mecanic [64]. Aceste studii sugerează posibilitatea modificării acţiunii fibrogene a pulberilor în timpul procesului de muncă prin diferite operaţii tehnologice la care sunt supuse.

Această teorie a putut explica lipsa corelaţiei intalnită în multe cazuri între conţinutul în SiO_2 şi capacitatea citotoxica şi implicit fibrogenă a pulberilor silicogene. Astfel:

- s-a explicat citotoxicitatea mult diferită a pulberilor cu acelaşi conţinut în SiO_2, dar de origini mineralogice sau cu pretratamente diferite. De ex. două pulberi cu conţinut de 100% α-cuarţ au prezentat un comportament foarte diferit citotoxic şi fibrogen [66]. Acest fapt a fost explicat după efectuarea măsuratorilor de chemiluminiscenţă care au arătat valori diferite pentru energiile de activare ale centrilor de captură electronică [66];

- într-un studiu efectuat pe 39 probe de pulberi cu conţinut asemănător în SiO_2 (cuprins intre 84-95%), dar cu conţinut diferit în ioni metalici, s-a constatat, în experimente *in vitro*, o citotoxicitate foarte diferită, variind între 30% şi 80% mortalitate celulara. S-a găsit în schimb o bună corelaţie între mărimea efectului citotoxic şi energia de activare a centrilor de captură electronică [67];

- s-a putut explica de ce unele probe de praf cu o concentraţie foarte mică în SiO_2 (0,2%) au un efect puternic citotoxic şi fibrogen şi anume s-a constatat prezenţa centrilor de captură electronică cu energii de ordinul a 0,5 eV [64].

Această teorie, stabilind o corelaţie între mărimea efectului citotoxic şi / sau fibrogen şi energia de activare a centrilor de captură electronică ai particulelor de SiO_2, poate permite evaluarea efectului biologic al unei pulberi prin măsurarea valorilor energiilor de activare ale centrilor de captură electronică, deci o evaluare a efectului biologic din măsuratori de structură electronică a particulelor de SiO_2. De asemenea, această teorie sugerează posibilitatea stabilirii limitelor de expunere a pulberilor industriale în aerul locurilor de muncă, luând în consideraţie energia

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

de activare a centrilor de captură electronică ai particulelor şi nu conţinutul în SiO_2 (sau nu numai conţinutul pulberilor în SiO_2).

3.2.2. Pulberi de azbest

Cercetările privind proprietăţile şi mecanismele care determină efectele biologice ale azbestului *in vitro* (citotoxicitate, hemoliza) şi *in vivo* (fibrogenitate, activitate mutagenă, cancer) au fost îngreunate pe de o parte de existenţa mai multor tipuri de azbest (crizotil şi cinci varietăţi de amfiboli: crocidolit, amozit, tremolit, actinolit şi antofilit) iar pe de altă parte de imposibilitatea de a stabili relaţii clare şi generice doză – răspuns. Aceasta s-a datorat în primul rând faptului că nu s-a putut stabili cu certitudine proprietatea (sau proprietăţile) cea mai importanta a fibrelor care iniţiază răspunsuri patologice. De asemenea, s-au stabilit corelaţii variabile între efectele pe termen scurt, *in vitro*, şi efectele pe termen lung, *in vivo* [56, 68]. Nu este bine stabilit dacă azbestul exercită efecte genetice directe, similar carcinogenilor chimici iniţiatori, sau dacă acţionează numai drept cocancerigen (promotor).

Proprietăţile pe care studiile recente le consideră factori primari, determinanţi ai efectelor biologice ale azbestului sunt: dimensiunile fibrelor, sarcina electrică de suprafată, solubilitatea (dezintegrarea) fibrelor în mediile biologice şi activitatea catalitică a suprafeţei fibrelor [56, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89].

3.2.2.1 Dimensiunile şi morfologia fibrelor

Asa cum s-a arătat în cap. 3.2.1.1. diametrul aerodinamic al particulelor fibroase de azbest determină posibilitatea de impact şi sedimentare a acestora în căile respiratorii.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Capacitatea pulberilor de azbest de a induce fibroza ori cancer a fost corelată cu *dimensiunile* fibrelor de azbest, astfel :

- producerea *azbestozei* a fost strâns corelată cu suprafața totală a fibrelor reținute în plămân, având lungimea 2 μm şi diametrul cuprins între 0,15-2 μm [56, 76, 79]. Astfel, Timbrell şi colab. [90] urmărind influența distribuției lungimilor şi diametrelor fibrelor de crocidolit, amozit şi antofilit asupra inducerii fibrozei în plămânul uman au observat o dependență directă şi puternică între mărimea suprafeței totale a fibrelor reținute şi gradul de fibroza, explicând aceasta prin mărimea interfeței fibră-țesut. Rezultate similare s-au raportat şi pentru crizotil [92]. Aceste studii au arătat că reținerea fibrelor creşte rapid cu lungimea între 2-5 μm şi cu diametrul între 0,15-0,3 μm, înregistrându-se un maxim la 0,5 μm şi scade când diametrul are valori intre 0,8-2 μm;

- apariția *mezoteliomului* (cancerul pleurei pulmonare) s-a arătat a se corela strâns cu numărul de fibre cu lungimea critică cuprinsă între 5-10 μm şi diametrul critic mai mic de 0,1 μm. Privind diametrul critic în inducerea mezoteliomului, un studiu efectuat asupra populației de mineri din localitatea Paakkila (Africa de Sud) [91] a arătat corelația între distribuția pe marime a fibrelor existente în aer şi incidența apariției mezoteliomului. În această localitate, norii de praf conțineau aproximativ 50 fibre / cm^3 aer cu o proporție mare de diametre cuprinse între 0,5-3 μm şi în ciuda expunerii foarte mari nu s-a observat apariția nici unui mezoteliom. Experimentele pe animale cu fibre din Paakkila au produs mezotelioame atunci când s-au utilizat doze de 10 000 ori mai mari decât cele necesare inducerii mezoteliomului uman. Studiul a concluzionat că ar exista o bună corelație între distribuția pe diametre şi apariția mezoteliomului dacă s-ar considera drept limită critică superioară a diametrului în inducerea mezoteliomului valoarea de 0,1 μm. S-a constatat că azbestul din Paakkila conține 1% fibre cu diametrul sub 0,1 μm, fapt care a explicat dozele mari necesare pentru inducerea mezoteliomului la animale.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Cercetarile lui Timbrell au putut astfel explica lipsa apariției mezoteliomului în experimentele pe animale efectuate utilizând fibre cu dimensiuni mari (1,5 μm Stanton 1981 ; 1 μm O.M.S. 1988 ; 0,25 μm Wagner 1986 şi Pooley 1980) [91, 93, 94, 95].

Privind lungimea critică în producerea mezoteliomului, o serie de studii [96, 97] au arătat că injectarea intraperitoneală de amozit scurt (1,7% fibre cu l > 5 μm) a produs numai un mezoteliom la 24 de sobolani , în timp ce amozitul UICC (11% fibre cu l > 5 μm, 2,5 % cu l > 10 μm) a produs 30 de mezotelioame la 32 de sobolani, iar amozitul lung (30% fibre cu l > 5 μm, 10% cu l > 10 μm) a produs 20 mezotelioame la 21 de şobolani. Lippmann [56] corelând rezultatele studiilor de mai sus, concluzionează că producerea mezoteliomului se coreleaza cu numarul de fibre reținute în plamân cu lungimea intre 5-10 μm şi diametru mai mic de 0,1 μm.

- producerea *cancerului pulmonar* a fost strâns corelată cu prezența în plămân a fibrelor cu lungime peste 10 μm (dar sub 100 μm) şi diametrul peste 0,15 μm. Aceste dimensiuni sunt susținute de o serie de studii inhalatorii efectuate pe animale [96, 97, 98, 99, 100, 101] care au arătat că fibrele scurte de amozit (1,7% fibre cu l > 5 μm) nu au produs cancer la şobolani, în timp ce fibrele lungi de amozit (30% fibre cu l > 5 μm, 10% cu l > 10 μm) au produs 8 cancere la 40 de sobolani ; fibrele de tremolit (28% fibre cu l > 5 μm, 7% cu l > 10 μm) au produs 18 cancere la 39 de sobolani. Nu au fost obținute diferențe semnificative între numărul de tumori induse de fibrele scurte şi lungi de crizotil. Deoarece fibrele mai subțiri sunt mai uşor translocate spre pleură şi peritoneu, acestea au un rol minor în carcinogeneza pulmonară. De aceea, riscul real pentru cancerul pulmonar este asociat cu numărul fibrelor cu lungime peste 10 μm şi diametrul peste 0,15 μm.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Caracteristicile *morfologice* ale fibrelor prezintă importanță pentru reținerea acestora în căile respiratorii. Amfibolii fiind formați din fibre drepte, tind a se alinia axei de curgere în căile respiratorii. În schimb, fibrele curbate de crizotil ating pereții laterali ai căilor respiratorii, putând fi reținute mai ușor la bifurcații. Bifurcațiile căilor aeriene au constituit locurile inițiale unde a fost observat prejudiciul celular în expunerea la crizotil [103].

3.2.2.2 Solubilitatea în mediile biologice

Solubilitatea se referă la digestia parțială (uneori totală) a componentelor fibrelor în organism (rezultând fibre mai poroase) cu sau fără modificarea dimensiunilor și a sarcinii de suprafață a fibrelor. Fibrele de crizotil se pot defibrila în fibrile, fapt care facilitează dezintegrarea lor ; amfibolii suferă mult mai puține modificări dimensionale sau structurale prin dezintegrare în timpul retenției pulmonare. Astfel, Bellmann și colab. [102] au instilat plămânul de șobolan cu suspensie de crocidolit și crizotil și au examinat fibrele reziduale pulmonare dupa o zi, 1, 6, 12, și 15 luni, observând că numărul de fibre de crocidolit nu au scăzut timp de un an; numărul fibrelor de crizotil cu $l > 5$ μm s-a dublat datorită clivării longitudinale.

Roggli și Brody [103] au expus șobolani la aerosoli de crizotil și au arătat că eliminarea fibrelor a fost asociată cu modificări dimensionale. Când șobolanii au fost expuși la fibre de crocidolit nu s-a observat modificarea diametrului acestora.

Într-un alt studiu [104] s-a constatat că într-o fabrică de azbociment, concentrația diferitelor tipuri de fibre de azbest în azbociment era urmatoarea: 91,7% crizotil, 3,1% amozit, 4,1% crocidolit și 1,1% antofilit.

Analiza microscopoelectronică a probelor de țesut pulmonar obținute de la muncitorii decedați a arătat un raport invers între concentrațiile crizotilului și

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

amfibolilor : 0-9% crizotil şi 77-99% amfiboli, datorită procesului de solubilizare diferenţiată al fibrelor de azbest în ţesutul pulmonar.

Solubilitatea fibrelor de azbest în organism a fost demonstrată şi de studiile care au evidenţiat fibre de azbest parţial degradate în urina muncitorilor expuşi [105, 106].

Instabilitatea crizotilului *in vivo* se datorează pierderii magneziului structural (crizotilul este un silicat de magneziu hidratat, cu formula generală $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$, având grupe de hidroxid de magneziu pe suprafaţa exterioară a fibrelor) aşa cum s-a observat pe fibre izolate din plămânul uman şi din culturi de macrofage alveolare de iepure [107].

Ionii de magneziu de pe suprafaţa fibrelor au un rol important pentru citotoxicitatea şi carcinogenitatea fibrelor [108].

În schimb crocidolitul [varietate din seria amfibolilor, cu formula generală $Na_2Fe_5Si_8O_{22}(OH)$], se dizolvă mult mai greu în lichidele biologice, dar prin conţinutul în ioni Fe^{2+} şi Fe^{3+} catalizează o serie de reacţii producătoare de radicali liberi implicaţi în carcinogeneza indusă de acest mineral (v. cap. 3. 2. 2. 4) [109]. Viteza de dizolvare, depinzând de pH-ul mediului, este diferită în mediul extracelular şi intracelular. De asemenea, viteza de dizolvare depinde de dimensiunile şi compoziţia chimică a fibrelor.

Solubilizarea azbestului în organism reprezintă un factor important care determină procesele de reţinere şi acumulare în organism şi de asemenea influenţează procesele de migrare ale fibrelor din plămân în alte organe şi ţesuturi ; astfel, procesul de solubilizare poate modifica serios potenţialul patogenic al azbestului.

3.2.2.3. Sarcina electrică

Crizotilul are un potenţial zeta al suprafeţei de +44,5 mV la pH=7,4 iar amfibolii au o valoare a potenţialului zeta de –43,5 mV la pH=7,4 [70, 110].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Sarcina electrică a pulberilor de azbest are importanţă în primul rând pentru procesele de pătrundere şi reţinere a acestora în căile respiratorii. În al doilea rând, sarcina electrică reprezintă factorul determinant în exercitarea activităţii catalitice a azbestului *in vivo*: fibrele având sarcina electrică exercită atracţii electrostatice atunci când se află în vecinătatea macromoleculelor, atracţii ce au drept rezultat contactul şi adsorbţia macromoleculelor pe suprafaţa acestora. Adsorbţia chimică conduce la reacţii de transfer electronic între fibra şi macromolecula adsorbită. Potenţialul electric al suprafeţei fibrelor putându-se modifica *in vivo* ca urmare a procesului de solubilizare al fibrelor, determină implicit modificarea capacităţii de adsorbţie a azbestului şi a activităţii catalitice a acestuia [70, 111].

3.2.2.4 Activitatea catalitică

Proprietăţile adsorptive ale fibrelor minerale studiate în corelaţie cu efectele biologice, au condus la ipoteza, azi larg acceptată, că activitatea catalitică a fibrelor minerale joacă un rol cheie în exercitarea efectelor biologice [112, 113, 114, 115, 116]. Activitatea catalitică rezidă în prezenţa *centrilor activi donori de electroni* pe suprafaţa fibrelor ; aceştia pot fi centri *reducători* (sau donori de un electron) şi *bazici* (sau donori de doi electroni) [117, 118, 119, 120]. Centrii reducători şi bazici sunt în principal grupe OH slab coordinate, localizate la marginea cristalului şi grupe OH externe, care au sarcină negativă datorită substituţiilor izomorfe sau golurilor cationice din reţeaua cristalină [117, 118].

Numărul de centri bazici existenţi pe suprafaţa crizotilului determinat de Bonneau şi colab. [121] prin trei metode (reacţia de schimb a grupelor OH prin ioni fluorură, reacţia de adiţie cu molecule de dioxid de carbon şi reacţia de condensare cu acid benzoic) a variat între 0,3-3 / nm^2 (în funcţie de caracterul mai mult sau mai putin acid al reactivului utilizat şi de originea crizotilului).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Activitatea catalitică a suprafeței fibrelor de crizotil și crocidolit a fost investigată și evidențiată *in vitro* prin studiul interacției acestor varietăți de azbest cu diferiți compuși biologici. Astfel, studiul interacției între albumină (proteina majoritară a serului sanguin, ce functionează drept transportor al unor substanțe endogene și exogene în organism) și fibrele de crizotil și crocidolit a confirmat prezența centrilor activi externi și interni de tip bazic (OH) pe suprafața fibrelor. De asemenea s-a evidențiat existența unor interacții de tip fizic azbest-albumina care implică grupe OH ale azbestului și grupe NH ale albuminei, stabilindu-se legături de hidrogen mixte de tipul O-H... $N_{albumina}$ sau O... H-$N_{albumina}$ [86, 88].

Interacții de tip fizic și chimic au fost evidențiate *in vitro* și în cazul interacției azbest-hemoglobina. Adsorbția hemoglobinei pe azbest implică grupe CO și NH ale hemoglobinei și grupe OH polimer și Si-O ale azbestului (apariția interacțiilor între cei doi compuși determină blocarea centrilor activi de pe suprafața azbestului) [122].

Între azbest și creatinină se stabilesc interacții fizice și chimice ce implică grupe OH polimer, Si-O și octaedrii de Mg ai azbestului și grupe CO și CH_2 ale creatininei; între azbest și γ-globulina interacțiile sunt de natură chimică, conducând la distrugerea în mare masură a legăturilor peptidice, fiind implicați octaedrii de Mg ai azbestului [87].

O serie de cercetari *in vivo* și *in vitro* [123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133] au demonstrat adsorbția macromoleculei ADN pe azbest, urmată de prejudicierea ADN și modificarea activității enzimatice a ADN-azei. Aceste studii au relevat capacitatea potențial mutagenă a fibrelor de azbest, dar nu este clar mecanismul prin care azbestul prejudiciază macromolecula ADN. Studii *in vitro* [89] au arătat existența unor interacții slabe, de natură fizică crizotil-ADN și a unor interacții puternice, chimice crocidolit-ADN, care implică grupe NH, CO și fosfat ale ADN și grupe Si-O ale crocidolitului. Se stabilesc legaturi de hidrogen în ambele cazuri.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Alte studii [124, 125, 135, 136, 137, 138, 139] au postulat că Fe(II) şi / sau Fe(III) din azbest poate fi mobilizat *in vivo* de diferiţi chelatori cu masa moleculară mică (citrat) şi în prezenţa diferiţilor agenţi reducători (ascorbat, cisteina sau glutation) prin reacţie Fenton, generează specii de oxigen reactiv care prejudiciază materialul genetic. Este cunoscut că toate tipurile de azbest conţin fier, fie ca un constituent structural, fie ca impuritate. De ex. amfibolii (crocidolitul şi amozitul) conţin aproximativ 27% fier, în timp ce conţinutul în fier al crizotilului este de numai 2-6% [140]. Reacţia principală în care este implicat fierul din azbest este numită reacţie Fenton (ec. 1), în care ionii feroşi sunt oxidaţi de H_2O_2 la ioni ferici; aceştia pot fi reduşi din nou la ioni feroşi de către superoxid sau alţi agenţi biologici reducători (ec. 2). Procesul global (ec. 1-3), numit şi reacţie Haber-Weiss catalizată de Fe, constă în convertirea H_2O_2 în radicali hidroxil. În plus, fierul poate cataliza şi formarea radicalilor alcoxil din hidroperoxizi organici (ec. 4). Studiile menţionate mai sus arată că fierul din azbest participă în unele sau toate aceste reacţii:

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^- + HO \quad (1)$$

$$Fe^{3+} + O_2^- \rightarrow Fe^{2+} + O_2 \quad (2)$$

$$O_2^- + H_2O_2 \text{ fier } HO^- + HO + O_2 \quad (3)$$

$$Fe^{2+} + ROOH \rightarrow Fe^{3+} + RO + HO^- \quad (4)$$

Prejudiciul macromoleculei ADN de către azbest a fost explicat în unele cercetări [70] pe baza *teoriei electronice* a catalizei care este valabilă atât pentru semiconductori cât şi pentru dielectrici (azbest). În explicarea carcinogenezei chimice, teoria electronică consideră că o substanţă cancerigenă (azbest) determină un transfer de electroni din banda de valenţă a unei proteine sau moleculă de ADN pe un nivel electronic liber al cancerigenului [141]. Pentru efectuarea transferului este necesar ca energiile nivelelor electronice implicate să aibă valori foarte apropiate.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În fig. 3.10 este prezentată schema energetică pentru transferul electronic între azbest şi macromolecula de ADN (pentru ambele substanţe, teoria electronică a catalizei admite modelul benzilor corpului solid) [70].

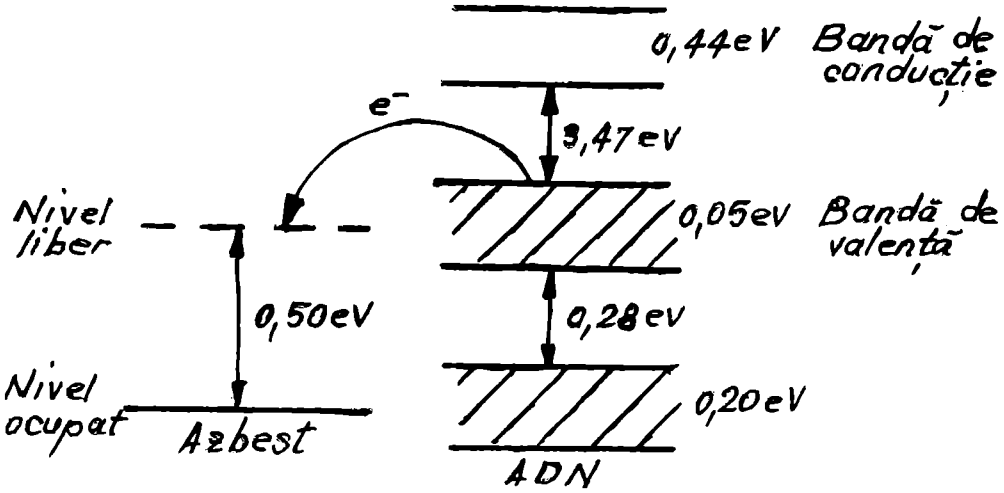


Fig. 3.10. *Schema energetică pentru transferul electronic între azbest şi ADN (pentru molecula de ADN energiile au fost calculate de Huckel [70])*

Poziţia energetică a nivelelor libere şi ocupate ale azbestului a fost evaluată de Robock şi Klösterkotter [142]. Când macromolecula ADN este adsorbită pe fibra de azbest are loc un transfer electronic de la ADN la azbest deoarece azbestul are nivele electronice libere cu energii cuprinse în domeniul energetic al celei mai înalte benzi ocupate a ADNului. Acest transfer electronic conduce la modificări tautomere şi conformaţionale ale bazelor nucleotidice. Ca urmare, creşte probabilitatea apariţiei mutaţiilor deoarece, în procesul de replicare al ADNului se va sintetiza baza pereche falsa (într-o formă tautomeră, neuzuală). De asemenea, în urma transferului, apare o densitate de sarcină pozitivă în una din bazele azotate (deci o bază polarizată), în procesul de replicare sintetizându-se baza pereche de asemenea polarizată, aparând astfel forţe de respingere electrostatice între aceste perechi de baze care duc la desfacerea pas cu pas a elicei moleculei de ADN.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Numeroase studii [143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151] au sugerat că fierul conținut în azbest catalizează peroxidarea lipidică a lipidelor membranelor celulare, proces care are drept rezultat apariția de radicali liberi care prejudiciază materialul genetic. Astfel, Weitzman şi Weitberg [148] au produs peroxidarea lipidică într-o emulsie de fosfolipide şi au constatat că amozitul, crocidolitul şi crizotilul au stimulat acest proces; când varietațile de azbest au fost prespălate cu desferoxiamina pentru a chela fierul, s-a constatat reducerea capacității azbestului de a cataliza procesul peroxidării lipidice. Rezultate similare au fost obținute de Turver şi Brown [143] care au studiat influența crocidolitului asupra peroxidării lipidice şi prejudiciului ADN în culturi de celule C3H-10T-1/2. Autorii au arătat creşterea vitezei peroxidării lipidice în prezența crocidolitului precum şi inhibarea semnificativă a acestui proces de către desferoxamina şi au postulat rolul fierului conținut în azbest drept catalizator al proceselor de peroxidare lipidică şi implicit al prejudicierii ANDului.

Gulumian şi colab. [145, 146] au demonstrat că o suspensie de 10 mg de crocidolit / ml catalizează rapid (5-10 min.) peroxidarea lipidică în microsomi de ficat şi plămân de şobolan, iar Jajte şi colab. [151] au găsit, că peroxidarea lipidică este indusă în omogenate şi membrane lisosomale din plămân de şobolan după o singură doză intratraheală de suspensie de 20 mg crocidolit. Goodglick şi colab. [149] au raportat că inducerea peroxidarii lipidice precum şi intensificarea acesteia este dependentă de timp şi doză.

O serie de cercetări au studiat posibilitatea modificării activității catalitice a suprafeței pulberilor de azbest prin pretratament mecanic, termic sau chimic, ca posibilitate de modificare a potentialului biologic, dar şi în scopul cunoaşterii agresivității biologice a pulberilor care, în procesele industriale, sunt supuse acțiunilor mecanice, temperaturilor ridicate sau agenților chimici. Astfel, tratamentul mecanic (măcinare manuală în mojar de agat timp de 15 min.) a două probe de crizotil având aceeaşi origine mineralogica a aratat în spectrul IR o

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

prejudiciere slabă a structurii fine [118]. În scopul reducerii activității hemolitice și citotoxice a fibrelor de azbest, s-a incercat blocarea centrilor activi printr-un pretratament chimic. În acest scop, o serie de studii au raportat fixarea de grupe fosfat pe suprafața fibrelor de crizotil prin tratarea acestora cu $POCl_3$ gaz, dată fiind interacția puternică a acestui compus cu grupele hidroxil ale azbestului [110, 117, 152]. Rezultatele acestor studii arată că fixarea grupelor fosfat nu asigură o "pasivare" substanțială a azbestului privind efectele biologice *in vitro* ale azbestului.

Studii *in vitro* au arătat că pretratamentul termic al crizotilului la 400^0 C, timp de 24 ore a intensificat capacitatea de interacție a acestuia cu macromolecula ADN, stabilindu-se legături chimice de tipul Si-O-O-PO_3, dar nu a influențat capacitatea de interacție a azbestului cu alți compuși biologici studiați. În schimb, pretratamentul termic la 600^0 C, timp de 24 ore al pulberilor de azbest a diminuat capacitatea de interacție a grupelor Si-O ale crizotilului și crocidolitului cu hemoglobina, a grupelor Si-O ale crocidolitului cu ADN, a octaedrilor de Mg ai crizotilului cu creatinina și γ-globulina. Aceste rezultate arată, pe de o parte, natura centrilor activi ai azbestului care sunt constituiți în principal din grupe Si-O, iar pe de altă parte , posibilitatea modificării activității de suprafață și implicit a potențialului biologic prin pretratament termic [86, 87, 88, 89, 122].

3.2.3. Fibre minerale artificiale

Denumirea de fibre minerale artificiale (FMA) este utilizată pentru a desemna fibre amorfe, vitroase, fabricate din zgură, rocă, materiale ceramice sau sticlă topită, cu dimensiuni micronice și a căror compoziție chimică include oxizi de siliciu, aluminiu, bor, modificatori de rețea și alte elemente [153, 154, 155].

În prezent se cunosc următoarele tipuri de FMA: *lâna de rocă* și *lâna de zgură* (fibre obținute prin topirea diferitelor tipuri de roci magmatice sau a zgurii

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

rezultate în metalurgia fierului, oţelului sau a cuprului), *fibrele refractare sau fibrele ceramice* (obţinute din argile, diverşi oxizi metalici, azoturi de siliciu şi bor) şi *fibrele de sticlă* [156, 157].

Fibrele de sticlă pot fi subîmpărţite în 3 tipuri în funcţie de mărimea diametrului: *fibre de sticlă cu filament continuu* (diametru 6-15 μm), *lâna de sticlă* (diametru 2-9 μm) şi *microfibre de sticlă* (diametru 0,1-3 μm) destinate unor scopuri speciale [158, 159, 160, 161, 162, 163, 164].

Dintre proprietăţile fizico-chimice responsabile de activitatea biologică a acestui tip de fibre au fost implicate dimensiunile, compoziţia chimică, solubilitatea şi durabilitatea în lichidele biologice şi activitatea de suprafaţă.

3.2.3.1 Dimensiunile fibrelor

Dimensiunile şi geometria FMA au fost studiate în corelaţie cu procesele de pătrundere şi reţinere a acestora în plămân. Depozitarea FMA în aparatul respirator se bazează pe cele 5 principii fizice amintite în cazul pulberilor silicogene (v. cap. 3.2.1.1) [165].

Studii *in vitro* au demonstrat că citotoxicitatea şi genotoxicitatea indusă de FMA se corelează puternic cu dimensiunile acestora şi anume citotoxicitatea se coreleaza puternic cu lungimea fibrelor [160, 161, 162, 166, 167]. S-a aratat că fibrele de sticlă lungi şi cu diametrul mic posedă activitate citotoxica marcantă [161, 167].

Hart şi colab. [168] au observat o corelaţie directă între lungime şi efectul toxic al fibrelor refractare în experimente pe culturi celulare ovariene de hamsteri.

Rolul diametrului este mai puţin clar decât al lungimii. Hesterberg şi colab. [169] au raportat că fibrele cu diametrul mediu de 0,13 μm, sunt mult mai puţin periculoase pentru sănătate decât fibrele cu diametrul de 0,8 μm atunci când

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

concentrația fibrelor a fost evaluată în unitați de masă. Când concentrația fibrelor a fost evaluată în număr de fibre, mai periculoase, au apărut fibrele mai groase.

Privind efectele cancerigene, o serie de cercetări [170, 171, 172, 173] au arătat existența unei corelații semnificative, pozitive între probabilitatea de apariție a tumorilor şi logaritmul numărului de fibre dintr-un μg de probă, care au *lungime peste 8 μm* şi *diametrul mai mic sau egal cu 0,25 μm* ; acest număr a fost numit *număr indice*. Bazându-se pe aceste cercetări a fost emisă *ipoteza Stanton* [170]. Conform acestei ipoteze, carcinogenitatea FMA depinde de *numărul indice* şi durabilitatea fibrelor în mediul biologic şi mai puțin de alte proprietăți fizico-chimice. Unele cercetări [174] au arătat că alte proprietăți decât dimensiunile FMA sunt răspunzătoare de efectele biologice. Inconsecvențele teoriei Stanton se referă la apariția tumorilor în expunerea la unele materiale nefibroase şi la existența unei relații, insuficient definite, doză-răspuns între numărul de fibre lungi şi subțiri existente în 1 μg de probă minerală şi carcinogenitate. S-a postulat că discrepanțele existente în această teorie ar putea fi atribuite unei caracterizări incomplete sau neadecvate a probelor prin tehnicile microscopice folosite. Cu toate neajunsurile acestei teorii, cele mai multe studii utilizează pentru aprecierea riscului profesional în expunerea la FMA numerele indici. Aceste numere arată probabilitatea de apariție a tumorilor în expunerea la FMA. Numărul indice are valori cuprinse între 2,5 şi 6, iar probabilitatea de apariție a tumorilor este proporțională cu valoarea numărului indice.

3.2.3.2 Solubilitatea şi durabilitatea

Solubilitatea FMA se referă la procesul de dizolvare în lichidele biologice iar durabilitatea la procesul de fragmentare mecanică în aceste medii.

Ordinea solubilității fibrelor *in vivo* s-a demonstrat a fi următoarea: fibre de sticlă > lână de zgură > lână de rocă > fibre ceramice > crizotil > crocidolit, iar

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

potențialul toxic crește în aceeași ordine [102, 153, 175]. Solubilitatea fibrelor depinde de pH-ul mediului: fluidul extracelular are o valoare a pH-ului de 7,4 în timp ce fluidul intracelular are un pH de aproximativ 5.

Durabilitatea FMA este raportată la *clearance*-ul pulmonar: când fibrele sunt scindate în fragmente mai mici, ele sunt reținute într-o măsura mai mică, fiind date afară din organism prin fenomenul de clearance.

Durabilitatea FMA în plămân variază în ordinea: fibre de sticla < lână de zgură sau de rocă < crizotil < amfiboli [165].

3.2.3.3. Activitatea de suprafață

Unele studii consideră că la baza efectelor biologice induse de FMA se află procesul de cataliză pe care acestea îl exercită asupra membranelor celulare cu producerea de radicali liberi [144, 176]. Astfel, Gulumian şi colab. [144] notează ca fibrele de sticlă generează radicali de tip hidroxil, în ciuda unui conținut scăzut în fier, în comparație cu azbestul. Autorii explică acest fapt prin starea de coordinare a fierului din fibrele de sticlă (şi din alte FMA) care îi conferă starea de a fi " înalt catalitic ".

3.2.4 Pulberi metalice

Pentru compuşii metalici, *valența* imprimă un grad diferit de agresivitate. Astfel, fosforul trivalent este toxic, fosforul pentavalent este netoxic; cromul bivalent şi trivalent este mai puțin toxic decât cromul hexavalent. Arsenul trivalent este toxic, arsenul pentavalent are toxicitate mai mică [177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184]. Explicația acestui fapt rezidă în mecanismul intim de acțiune. De ex. în cazul cromului, compuşii de crom hexavalent au activitate cancerigenă mult mai pronunțată decât compuşii de crom trivalent deoarece, intracelular are loc o reducere a Cr^{6+} la specii penta- şi tetravalente, cu viață

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

scurtă, dar deosebit de reactive. În cazul compuşilor de crom trivalent această reducere nu are loc, toxicitatea şi carcinogenitatea acestei forme fiind mai redusă [185].

Sarcina electrică are importanţă pentru toxicitatea pulberilor metalice şi a compuşilor acestora. Astfel, Pb^{2+} este toxic, în timp ce Pb metalic este mai puţin toxic. O explicaţie care s-a dat acestui fapt a fost că fagocitoza depinde de încărcarea pe suprafaţă a particulei [186]. De asemenea, ionii metalici interacţionează cu uşurinţă cu diferite grupări din macromoleculele organice, de ex. ionii de As, Pb, Sn, Hg, Cd, Zn, Au, Ag, Cu au o afinitate mărită pentru grupele SH cu care reacţionează după schema: $R\text{-}SH + M^{+} \rightarrow R\text{-}S\text{-}M + H^{+}$ [187].

Mărimea particulelor prezintă importanţa pentru fagocitoză. Particulele cu mărimea de 2-4 μm sunt fagocitate de 5-6 ori mai mult decât particulele cu marimea de 5-6 μm.

Structura cristalină a compuşilor anorganici influenţează potenţialul lor toxic deoarece influenţează fagocitoza şi capacitatea de transformare intramoleculară. Astfel, formele cristaline de Ni_3S_2, NiS sau Ni_3Se_2 au fost fagocitate mai activ în experimente pe animale şi au avut o toxicitate mai mare comparativ cu particulele amorfe de NiS, Ni metalic, Ni_3O_3 sau NiO [188].

Solubilitatea în mediile biologice influenţează atât absorbţia în organism cât şi citotoxicitatea compuşilor anorganici. Astfel, compuşii de crom solubili sunt mai uşor absorbiţi decât cei insolubili.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3.2.5. Determinarea capacităţii respiratorii cu ajutorul spirometrului *„Airlife" - lucrare practică*

Consideraţii teoretice

Capacitatea respiratorie este o caracteristică importantă a individului. Aceasta deoarece respiraţia asigură la nivelul plămânilor încărcarea hemoglobinei (Hb) sângelui cu oxigen şi împrăştierea acestuia până la nivelul celulelor din ţesuturi, unde au loc *fenomenele de oxidare* care eliberează energia necesară organismului în toate manifestările sale: *metabolism, activitate locomotorie, activitatea cardiacă*, etc. Sângele preia din celulele ţesuturilor CO_2, rezultat din procesele de oxidare şi care la nivelul plămânilor este eliminat prin aerul expirat. Traiectul unei respiraţii normale înseamnă trecerea aerului prin cavitatea nazală, faringe, laringe, trahee, bronhii, bronhiole (ultimele două structuri sunt înglobate în plămâni) la capătul cărora sunt *alveolele* pulmonare. Acestea sunt unităţile funcţionale de schimb gazos ale pulmonilor.

Plămânii - două organe buretoase inegale, învelite de o pleură viscerală care mulează pe pleura parietală prin intermediul unei cantităţi mici de lichid pleural. Plămânii se găsesc în cavitatea toracică şi între ei se situează inima. În hilul interpulmonar se găsesc vasele de sânge ce vin de la inimă la plămâni (artera pulmonară) şi duc sângele de la aceştia la inimă cât şi o aglomerare de nervi din pneumo - gastric, gaglioni simpatici (plexus nervos toracic şi multe vase limfatice). Sângele pierde în membrana alveolei CO_2 şi se încarcă cu oxigen în virtutea diferenţelor de presiune a celor două gaze în sânge şi aerul alveolar. La exteriorul alveolelor există un ţesut pulmonar, alcătuit din fibre elastice, răspândite în toate direcţiile care dau ţesutului pulmonar o elasticitate deosebită (dacă se deschide spaţiul interpleural prin sondă - pneumotorax - aerul pătruns

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

prin presiunea care o exercită face ca tot pulmonul să se strângă la mărimea unui pumn!).

Putem înțelege *mecanica respirației* prin faptul că aerul intră în plămâni (inspirația) datorită depresiunii produse în urma deschiderii cutiei toracice v. Fig. 3.11, astfel că presiunea aerului exterior rămâne mai ridicată și împinge aerul spre interior. Destinderea cutiei toracice este cauzată de: contracția *diafragmei* (mărește diametrul longitudinal al acesteia) contracția *mușchilor intercostali externi*, care ridică coastele în sus și în afară, astfel că se mărește diametrul anteroposterior și lateral al cutiei toracice. Toate aceste acțiuni se datoresc unei activități musculare comandate de *centrul nervos al respirației din bulb*. La o respirație normală (inspirație și expirație normală) intră și iese din plămâni cca 500 cmc aer.

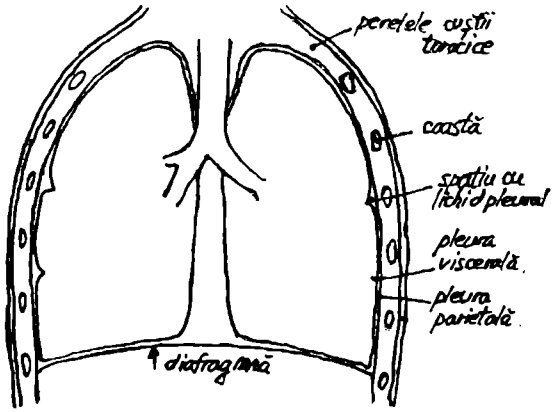


Fig. 3.11. *Cutia toracică*

Când contracția diafragmei și a mușchilor intercostali externi încetează (mușchii contractați se relaxează), forța elastică a pulmonului determină o compresiune care elimină aerul din interior și trage cu ajutorul pleurelor pereții cutiei toracice. Deci la om *inspirația* este un act *activ* cu cheltuială de energie (contracție musculară), *expirația* este un act *pasiv*, datorat elasticității fibrelor pulmonare. (Rolul pleurelor și al spațiului pleural este să permită un joc al

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

plămânilor în cutia toracică. Modificarea volumului cutiei toracice, antrenează modificarea în volum a plămânilor).

În *inspirația forțată* (la care se mai contractă și mușchii pectorali) cantitatea de aer ce intră în plămâni este de 1500 cmc (în plus față de cifra anterior dată 500 cmc corespunzător celei normale). În *expirația forțată* (în care se contractă și mușchii abdominali) volumul de aer eliminat este tot de 1500 cmc. Deci cantitatea maximă de aer pe care o pot avea plămânii:

în inspirația forțată	1500 cmc (aer suplimentar)
respirația normală	500 cmc
expirația forțată	1500 cmc (aer complimentar)
capacitatea respiratorie	3500 cmc (capacitatea vitală a plămânilor).

Dacă se face un dublu pneumotorax se constată că din plămânii mai iese circa 1500 cmc (aerul rezidual) astfel încât capacitatea totală a pulmonilor este de 5000 cmc. La fiecare respirație în acest volum intră câte 500 cmc, deci fiecare respirație primenește aerul din plămâni numai în procent de 10 %.

Capacitatea respiratorie este o caracteristică individuală, dependentă de condițiile fizice (vârstă, înălțime, sex) și social - profesionale.

Debitul respirator al pulmonilor este de

$$500 \times 15 \text{ resp/min} \Rightarrow 7500 \text{ cmc / min}$$

(Această mărime este notată cu MV - minut volum și este cuprinsă în formula (3.1 & 3.1)).

La sportivi el este crescut la 9000 cmc/min (în urma activității musculare când numărul de respirații ajunge la 30 - 50 respirații pe minut)

Deci *schimburile de gaze* la nivelul plămânilor și țesuturilor se fac datorită unui *mecanism fizic* constând în difuzia gazului cu presiune mai mare înspre locul cu presiune mai mică. La pulmon vine sânge venos în care presiunea oxigenului

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

este de 35 mm Hg, iar a CO_2 46 mm Hg. În aerul alveolar valoarea acestor presiuni este pentru oxigen 100 mm Hg, pentru CO_2 10 mm Hg. Sensul difuziei este deci strict determinat: oxigenul de la exterior trece spre sângele venos (oxigenându -l), iar CO_2 din sângele venos difuzează spre aerul alveolei pulmonare.

Oxigenul se fixează pe hemoglobina formând un complex labil oxihemoglobina notat ca $Hb.O_2$ (care are rol de transportor de oxigen) a cărui constantă de formare depinde de presiunea oxigenului (acesta corespunde unui *proces chimic*).

Dacă în atmosfera normală (760 mm Hg) presiunea oxigenului corespunde la 150 mm Hg (21 % oxigen în aerul atmosferic) aceasta scade prin căile respiratorii, ajungând în aerul alveolar la 100 mm Hg şi la această valoare 99 % din Hb trece in $Hb . O_2$.

La 3000 m altitudine presiunea atmosferică este 530 mm Hg, din care presiunea oxigenului corespunde la 100 mm Hg, în aerul alveolar ea este de 70 mm Hg şi numai 90 % din Hb se poate transforma în $Hb .O_2$. Fenomenul se accentuează cu creşterea altitudinii, transportul oxigenului prin acest complex fiind din ce mai deficitar; se produc fenomene de axfixie lentă cunoscute ca *„răul de altitudine* (dureri de cap, greaţă, vomă, astenie musculară). Peste o anumită altitudine nu se poate trăi fără mască de oxigen.

Scopul lucrării Determinarea şi ameliorarea capacităţii respiratorii individuale cu ajutorul spirometrului „Airlife''

Descrierea aparatului Spirometrul volumetric de impuls „Airlife'' constă dintr-un vas transparent gradat pe ambele părţi (2) (ceea ce asigură uşurinţa observării indicaţiilor) de tip *eudiometru* încastrat vertical într-un suport (soclu) de polietilenă (v fig. 3.12).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

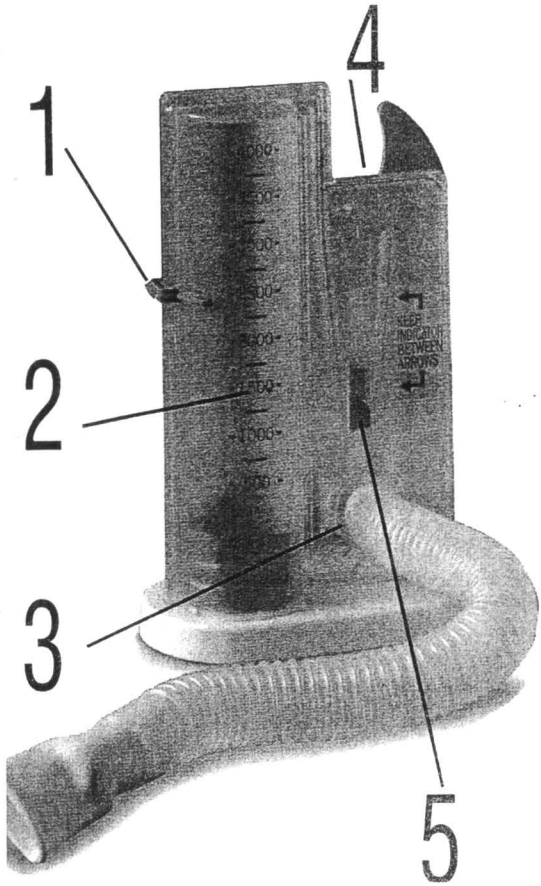


Fig. 3.12. *Spirometrul volumetric de impuls „Airlife''*

În corpul eudiometrului în stânga există indicatorul obiectiv al pacientului (1) (corespunzător volumului respirator urmărit în cazurile de recuperare post – operatorie sau post intoxicare), iar în dreapta jos se află orificiul cu o valvă cu o singură cale (3) care permite inspirația, mai mult decât expirația în spirometru. Suportul pentru piesa de gură (4) permite o manipulare uşoară. Indicatorul de inspirație (5) permite menținerea unor inspirări lente şi profunde.

Mod de lucru

1. Se ataşează capătul deschis al tubului la orificiul (3) şi se menține aparatul în poziție verticală (v. fig. 3.13).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

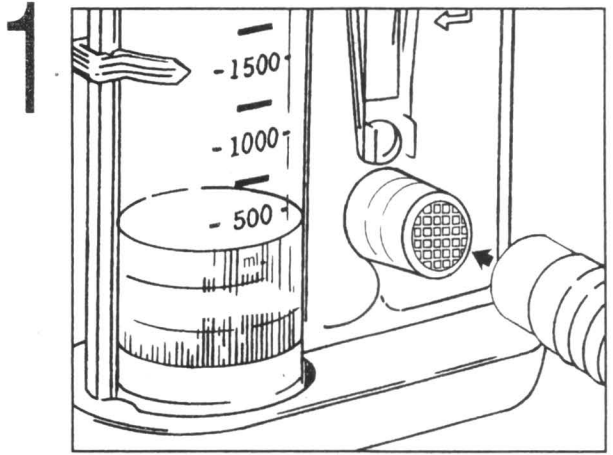


Fig. 3.13

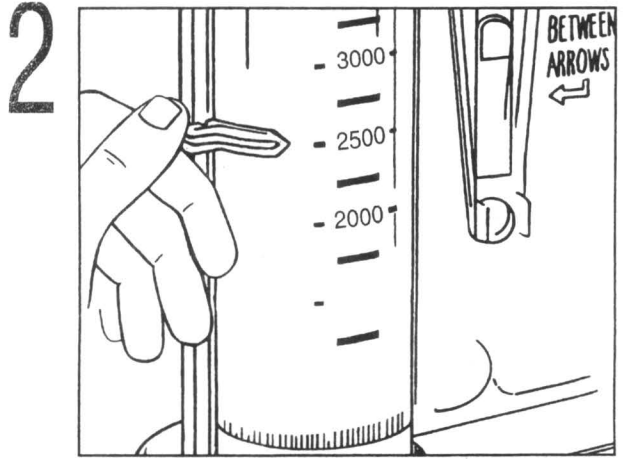


Fig. 3.14.

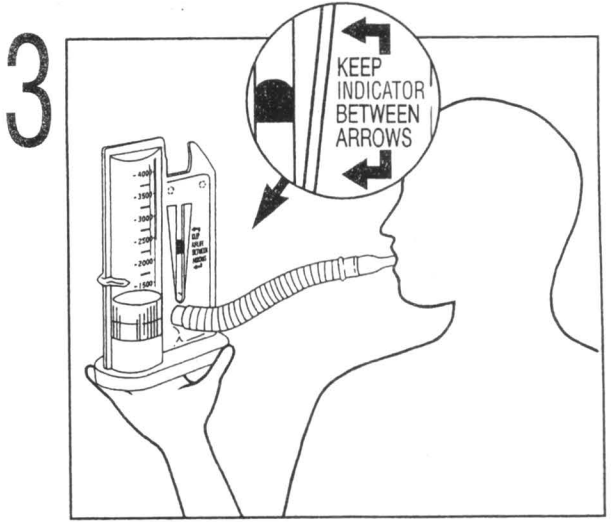


Fig. 3.15

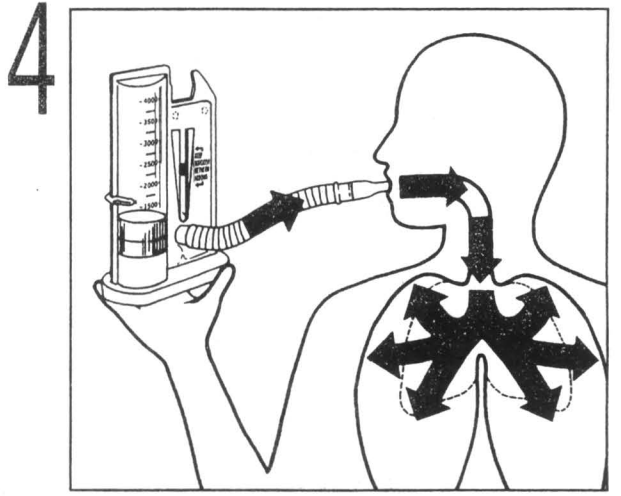


Fig. 3.16.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

2. Se deplasează indicatorul obiectivului pacientului (1) până la volumul prezumat (v. fig. 3.14)
3. Se expiră complet pe urmă se închid bine buzele în jurul piesei pentru gură (3.15). Se inspiră profund menținând indicatorul bleu între cele două săgeți (la volumul corespunzător) – care va trebui notat. Vă ghidați după nomograma predictivă 1 (vezi Anexa şi fig 3.16).
4. Când nu mai puteți inspira – mențineți respirația pentru 6 secunde. Pe urmă expirați lent (v. fig. 3.16)
5. Repetați operațiile de la punctul 3 – 4.
6. Piesa de gură (4) se spală bine cu apă caldă şi săpun şi apoi se introduce intr-o cuvă cu soluție bactericidă.
7. Verificați în ce situație din nomogramă (v. Anexa) vă aflați conform caracteristicilor de vârstă (cuprinse în coloana I) şi de înălțime (grupele de înălțime sunt extinse pe 11coloane pentru bărbați / femei). În nomograma 1 capacitatea respiratorie este exprimată în litri, cu o precizie ± 50 cmc.

- Formula pentru capacitatea respiratorie este publicată în *Manualul de Probe ale capacității respiratorii* autor G. Rupel, Mosby Publishing Co, 6th ed. 1994 p. 507.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4. PROPRIETĂȚI FIZICO-CHIMICE UTILIZATE ÎN STUDIUL RISCULUI POTENȚIAL DE POLUARE A MEDIULUI PRIN NOI SUBSTANȚE CHIMICE SINTETIZATE LA SCARA INDUSTRIALĂ

Efectul poluanților industriali asupra sănătății persoanelor expuse și asupra mediului depinde de mai mulți factori, dintre care o importanță deosebită o prezintă, concentrația de poluanți existentă în atmosfera industrială. Concentrația poluantului în atmosfera zonei de muncă este determinată la rândul ei de o serie de factori dintre care trebuie menționați rata de emisie în mediu, mobilitatea substanței în mediu, capacitatea de degradare a acesteia în mediu, potențialul de acumulare în mediu sau organism. Alți factori luați în considerare sunt condițiile climatice / meteorologice / geografice precum și densitatea populației expuse.

Estimarea *ratei de emisie* a poluanților industriali se face din date privind cantitățile utilizate. Cunoașterea însa și a altor proprietăți fizico-chimice ale poluanților ca de ex. starea fizică, presiunea de vapori, solubilitatea în apă, densitatea, mărimea particulelor poate da indicații atât asupra ratei de emisie cât și asupra părții de ecosistem ce poate fi afectat și asupra modului în care substanța poate afecta ecosistemul respectiv.

Mobilitatea substanței în mediu, definită ca fiind ușurința acesteia de a se deplasa în mediu, este determinată de capacitatea de distribuție a substanței poluante între diferite medii (aer, apa, sol) și de capacitatea (posibilitatea) de transport în fiecare mediu. Cunoașterea unor parametri fizico-chimici, ca de ex. curba presiunii de vapori, solubilitatea în apă, volatilitatea soluțiilor apoase, ușurința formării de complecși, densitatea, distribuția mărimii particulelor, vâscozitatea, tensiunea de suprafață a soluțiilor apoase permite estimarea distribuției substanței în aer, apă și sol.

În scopul prevederii capacității de *acumulare* în mediu sau în organismele vii a unei substanțe poluante s-a utilizat coeficientul de repartiție n-octanol / apă.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În schimb, capacitatea de hidroliză este un indiciu important al posibilității de *degradare* al substanței în contact cu apa [189].

În cele ce urmeaza vor fi prezentate principalele proprietăți fizico-chimice utilizate în testarea riscului potențial pe care îl reprezintă pentru poluarea mediului și pentru sănătate noile substanțe apărute în industrie [189].

4.1 SPECTRELE DE ABSORBȚIE UV-VIS

Scopul principal al determinării spectrului de absorbție ultraviolet-vizibil al unui compus chimic este de a avea unele indicații privind lungimea de undă la care compusul respectiv poate fi susceptibil de degradare fotochimică. Deoarece degradarea fotochimică este posibil a se produce atât în atmosferă cât și în mediu apos, spectrele specifice acestor medii vor aduce informații pentru testarea *persistenței.*

Degradarea depinde de energia totală absorbită în regiunile de lungimi de undă specifice. Energia absorbită este caracterizată atât de coeficientul molar de absorbție cât și de lărgimea de bandă. Totuși, absența absorbției măsurabile nu exclude posibilitatea fotodegradarii.

4.2 PUNCTUL DE TOPIRE / INTERVALUL DE TOPIRE

Deoarece punctul de topire denumește temperatura la care o substanță își modifică starea fizică, cunoașterea acestuia dă indicații privind *distribuția* substanței în și între mediile : apă, sol și aer. De asemenea, punctul de topire, ca masură a purității unei substanțe, poate da indicații asupra *prezenței impurităților*, care trebuie luate în considerare în evaluarea riscului de poluare prin compusul respectiv. În sfârșit, punctul de topire prezintă importanță pentru scopuri de identificare [190].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4.3 PUNCTUL DE FIERBERE / INTERVALUL DE FIERBERE

Punctul de fierbere dă indicații privind starea fizică în care o substanță va exista în mediu. Totodată este utilizat pentru scopuri de identificare.

4.4 CURBA PRESIUNII DE VAPORI

Această caracteristică dă indicații asupra probabilității *tranzițiilor de fază* lichid / gaz şi solid /gaz, iar împreună cu solubilitatea în apă se utilizează pentru calculul volatilității substanțelor din solutie apoasă. Datele privind presiunea de vapori sunt folosite de asemenea în prevederea concentrațiilor atmosferice.

4.5 SOLUBILITATEA ÎN APĂ

Solubilitatea în apă a poluanților reprezintă un factor semnificativ în testarea riscului, deoarece mişcarea spatială şi temporară a unei substanțe este puternic influențată de solubilitatea acesteia în apă. De asemenea, substanțele solubile în apă pătrund şi sunt reținute relativ usor de organismul uman.

Cunoasterea solubilității în apă este o condiție prealabilă pentru testarea degradării biologice şi a bioacumulării în apă.

4.5.1. Evaluarea globală a impactului poluării asupra calității apelor de suprafață

Generalități

Determinarea calității apelor constituie o necesitate de primă importanță din punct de vedere al calității mediului înconjurător. În Romania, condițiile generale de calitate pentru apele de suprafață sunt reglementate de STAS 4706-88, iar pentru apa potabilă de STAS 1342-91.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Conform STAS 4706-88 se stabilesc trei categorii de ape de suprafață, notate cu cifre romane, care se referă la domeniile posibile de utilizare a apelor:

- Categoria I^a : ape folosite la alimentarea cu apă potabilă a unităților de creştere a animalelor, a întreprinderilor din industria alimentară, la irigarea unor culturi prețioase, la amenajarea bazelor nautice şi strandurilor;
- Categoria II^a : ape pentru reproducerea şi dezvoltarea fondurilor piscicole, ape industriale, scopuri urbanistice si de agrement;
- Categoria III^a : ape pentru irigații, hidrocentrale, ape de răcire, stații de spălare.

Indicatorii de apreciere a calității acestora se pot grupa în:

1. Indicatori organoleptici de culoare, miros sau gust;
2. Indicatori fizici: pH, turbiditate, culoare;
3. Indicatori generali: reziduul fix şi reziduul total, conținutul de CO_2 şi Cl_2 liber, fenoli, oxigen dizolvat, produse petroliere, substanțe organice, cationi, (NH_4^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}), anioni (NO_3, NO_2, Cl, S^{2-}, SO_4), amoniac liber, fosfați;
4. Indicatori specifici: conținut de pesticide, cationi (Ag^+, Ba^{2+}, Cd^{2+}, Co^{2+}, Cr^{3+}, Cr^{6+}, H^+, Mb^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+}, Pb^{2+}), anioni (CN^-, F^-), Se, As, detergenți;
5. Radioactivitatea;
6. Indicatori microbiologici;
7. Indicatori pentru procesul de eutrofizare (grad de saturație în oxigen, substanțe nutritive – azot şi fosfor total, biomasa fitoplanctonică).

Clasele de indicatori dupa diverse standarde sunt grupate în Anexe.

Pe plan european, începand cu anul 1990 a început să fie folosit cu caracter experimental proiectul CES-UN/668 care constituie un standard de clasificare statistică a calității ecologice a apelor naturale.

Se remarcă faptul că în cadrul CCE nu există un standard de calitate a a pelor de suprafață şi al resurselor de apă cu utilizare pentru scop casnic.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Apele naturale sunt clasificate din punct de vedere ecologic în 5 clase (de la excelent la degradat), pe baza investigării a 7 clase de indicatori: conținut chimic și biochimic de oxigen, eutrofizare, acidifiere, substanțe periculoase (organice și anorganice), radioactivitate și poluare microbiologică.

Limitele de admisibilitate sunt mult mai severe în clasificarea ecologică pentru metalele grele (Hg, Cd, Pb), iar pentru pesticide se stabilesc limite individuale și nu pe grupe de substanțe, ca în standardul român.

4.5.1.1. Determinarea concentrației oxigenului dizolvat în ape de râu prin metoda iodometrică - lucrare pravctică

Considerații teoretice

Existența oxigenului dizolvat în ape condiționeaza atât existența faunei și florei acvatice (care este însă și producătoare de oxigen prin fotosinteză) cât și procesele de oxidare ale diferitelor specii poluante importante în regenerarea apelor. Într-un bazin acvatic concentrația de oxigen dizolvat C_{OD} nu poate depăși concentrația de saturatie C_S la presiunea de o atmosferă, o mărime tabelată în funcție de temperatură. De aceea se introduce un indicator corelat cu conținutul de oxigen dizolvat, numit *grad de saturație în oxigen* al apei.

$$Gr_{sat} = C_{OD} / C_S * 100 \qquad (4.1)$$

De menționat că determinarea cantității de oxigen dizolvat care intevine în calculul diverșilor indicatori (consum chimic de oxigen (CCO), CBO_5), face obiectul unei metodologii standardizate la nivelul fiecărei țări printr-o metodă accesibilă pentru orice stație de epurare. La noi metoda standardizată (STAS 6536-87) este cea *iodometrică*, a carei principiu este următorul:

$$O_2(diz) + 2KI + MnSO_4 = MnO_2 + I_2 + K_2SO_4 \qquad (4.2)$$

Iodul eliberat (echivalent cu oxigenul dizolvat in apă) se titrează cu soluție de tiosulfat de sodiu în prezența amidonului ca indicator, adică:

$$I_2 + Na_2S_2O_3 \Rightarrow Na_2S_4O_6 + 2NaI \qquad (4.3)$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Sarcina de lucru

Se va determina cantitatea de oxigen dizolvat şi gradul de saturaţie pentru o serie de probe de apă

Reactivii necesari:

1) Acid sulfuric conc $\rho = 1,84 g/cm^3$

2) Amidon soluţie 0,5%

3) Soluţie alcalină de iodură: într-un balon cotat de 1 l se introduc 500g NaOH (sau 700g KOH) şi 150g KI (sau 135g NaI)

4) Sulfat de Mn (II) de conc 34%

5) Tiosulfat de sodiu de concentraţii:

a) 0,1 M (într-un balon cotat de 100cm se introduc 2,4822 g $Na_2S_2O_3 \cdot 5HO$, se dizolvă şi se aduce la cotă cu apă fiartă şi răcită)

b) 0,025M (într-un balon cotat de 100cm se introduc cu pipeta 25cm soluşie 0,1M tiosulfat de sodiu şi se aduce la cotă cu apă bidistilată-fiartă şi răcită). Deoarece sunt necesare cantităţi mai mari din această soluţie pentru titrare la serii mari de probe, într-un balon cotat de 1000 se introduc 6,2 g $NaSO \cdot 5HO$ (M = 248), se dizolvă şi se aduce la cotă cu apă bidistilată fiartă şi răcită (acestei solutii i se stabileşte factorul).

Mod de lucru

Se parcurg urmatoarele trei etape:

I. Fixarea oxigenului dizolvat

a. Pentru acestă operaţie se alege un recipient de sticlă cu capacitatea 200-300cm (care se determină prin cântărirea volumului de apă cu o precizie de 0,1g şi se înscrie pe recipient) cu dop şlefuit tăiat oblic la partea inferioară în care se introduce proba.

b. Se introduc 2 ml soluţie alcalină de iodură cu o pipetă la baza recipientului şi apoi se astupă recipientul agitând conţinutul lui. În mod asemănător se introduc 2 ml soluţie de sulfat de mangan.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

II. Efectuarea analizei

1. După depunerea precipitatului de oxid-hidroxid de Mn (IV) se introduc în recipient 2 cm^3 H_2SO_4 conc; se agită.

2. Se transvazează cantitativ conținutul recipientului într-un vas Erlenmayer.

3. Se titrează cu tiosulfat de sodiu 0,025 m până la coloraţie galbenă.

4. Se adaugă 1-2 cm^3 amidon şi se titrează în continuare sub agitare până la incolor

Calculul şi exprimarea rezultatelor

Concentrația oxigenului dizolvat C (mg/dm) se calculează după relația:

$$C_{OD} = 0.2f\ V / V_1 - V_2\ \ 1000\ (mg/dm^3) \qquad (4.4)$$

unde: 0.2 - cantitatea de oxigen dizolvat (in mg) corespunzătoare la 1 cm^3 soluție 0,025m de tiosulfat de sodiu, mg

f - factorul soluției de tiosulfat 0,025 m

V - volumul soluției de tiosulfat de sodiu consumat la titrare (în cm^3)

V_1 - volumul recipientului folosit penru determinatrea oxigenului dizolvat (cm^3)

V_2 - volumul soluțiilor adăugate probei (KI +$MnSO_4$)

Pentru claritate datele se înscriu într-un tabel de forma:

Nr. proba	f	V	V_1	V_2	C_{OD}	T(^{0}C)	C_S	Gr_{sat}

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4.5.1.2. Determinarea concentrației, presiunii parțiale și gradului de saturație al oxigenului în ape de râu cu oxigenometrul Înolab oxilevel 2 - lucrare practică

Considerații teoretice

Oxigenul dizolvat este o specie moleculară derivată de la oxigen la care se produce ridicarea degenerării nivelului energetic π_g^* $2p_{xy}$ sub influența solventului. Deci, la această specie moleculară vor diferi proprietățile spectrale în UV față de ale oxigenului, dar ea se caracterizează prin același termen spectral fundamental ($^3\Sigma_g$) și aceleași proprietăți magnetice (corespunzătoare existenței a 2 electroni necuplați) ca și oxigenul.

Existența oxigenului dizolvat în ape condiționează atât existența faunei și florei acvatice (care este însă și producătoare de oxigen prin fotosinteză) cât și procesele de oxidare ale diferitelor specii poluante, importante pentru regenerarea apelor poluate.

Așa cum am arătat și in lucrarea precedentă, într-un bazin acvatic concentrația de oxigen dizolvat C_{OD} nu poate depăși concentrația de saturație C_S la presiunea de o atmosferică, o mărime tabelată în funcție de temperatură (v. Anexa). De aceea s-a introdus un indicator corelat cu conținutul de oxigen dizolvat, numit *grad de saturație* în oxigen al apei

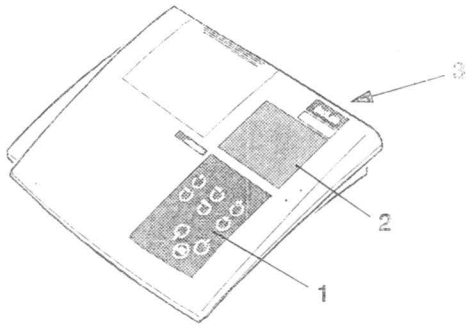
$$Gr_{sat} = C_{OD} / C_s \times 100 \qquad (4.1)$$

Determinarea cantității de oxigen dizolvat intervine în calculul diverșilor indicatori (consum chimic de oxigen (CCO), consum biologic de oxigen (CBO_5).

Ca un rezultat al cercetării în domeniul metodelor fizico-chimice de analiză și control al poluării s-au proiectat aparate de măsurare a oxigenului de tip potențiometru digital. Un astfel de aparat de laborator pentru măsurare a oxigenului dizolvat este *Ino Lab Oxilevel 2*, fabricat la WTWG mb H Germania. Aparatul respectiv trebuie poziționat pe o suprafață plană și trebuie protejat de

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

efectele unor iluminări şi încălziri accidentale. În figura 4.1.a este dat aspectul general al oxigenometrului, fig. 4.1.b – semnificaţia tastaturii, fig. 4.1.c – afişajul, iar în fig. 4.1.d este data unitatea de conexiuni.



1 Tastatura
2 Afisajul
3 Conexiuni

Fig. 4.1.a. *Aspectul general al oxigenometrului Ino Lab Oxilevel 2*

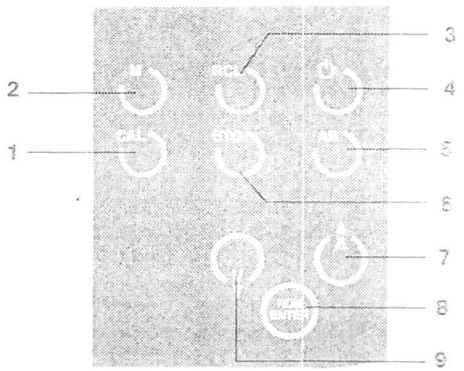


Fig.4.1. b. *Semnificaţia tastaturii*

1. Apelarea procedurii de calibrare
2. Selecţionarea modului de măsură
3. Afişarea/ transmiterea valorilor măsurate
4. Aprinderea /stingerea aparatului de măsură
5. Activarea /dezactivarea funcţiei Auto Read
6. Înregistrarea valorilor măsurate
7. Mărirea valorilor, defiler
8. Confirmarea intrărilor, demararea funcţiei Auto Read
9. Micşorarea valorilor, defiler (scanare)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

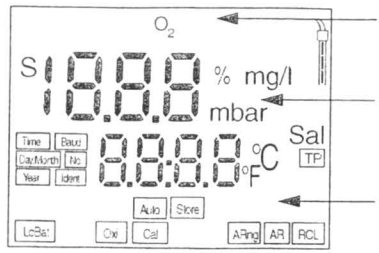


Fig. 4.1.c. *Afişajul*

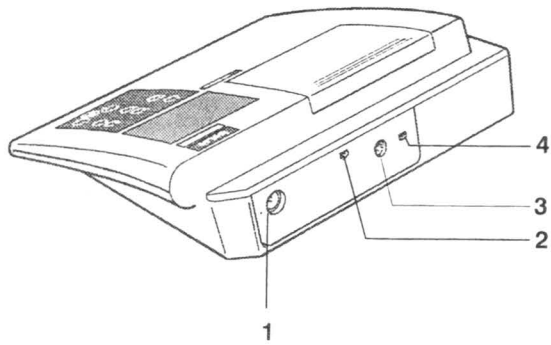


Fig. 4.1. d. *Unitatea de conexiuni*

1 – sonda de oxigen cu sonda de temperatură integrată

2 – Agitator (stirr Ox. 6)

3 – Interfața PS 232 (ieşire analogică)

4 – Transformator de alimentare

Sarcina de lucru

Se urmăreşte determinarea concentrației şi presiunii parțiale a oxigenului dizolvat precum şi a gradului de saturație în ape de râu cu ajutorul Oxigenometrului Inolab Oxilevel 2.

Descrierea oxigenometrului este redată în fig. 4.1.a – d.

Pentru măsurare se foloseşte sonda de oxigen care se montează într-o cutie multifuncțională indicată în fig. 4.2.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

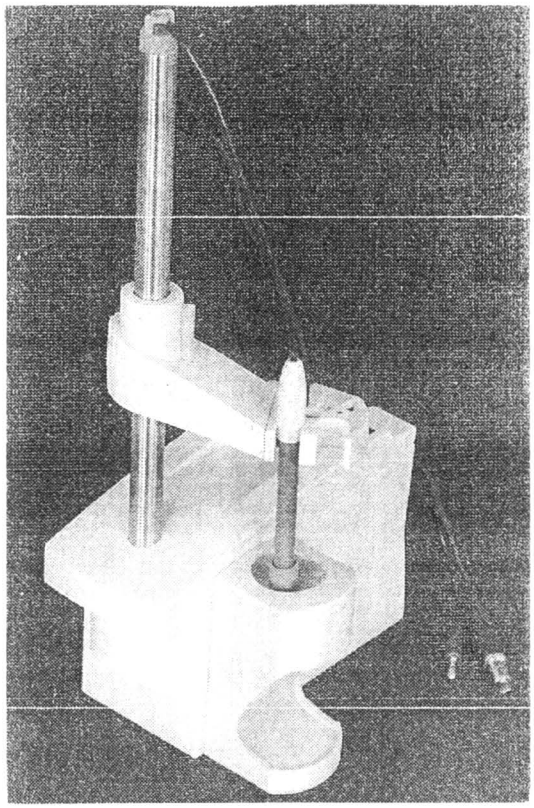


Fig. 4.2. *Cutie multifuncțională*

Mod de lucru

Se va respecta următoarea succesiune de operații:

1. Se unește sonda de oxigen (cu sonda de temperatură integrată) cu aparatul de măsură.
2. Se introduce aparatul în priză apăsând tasta 4 fig. 4.1.b
3. Se calibrează sau se controlează sistemul de măsură.

   Pentru *calibrare* se introduce sonda de oxigen în paharul de calibrare în aer. Se apelează modul de măsură al oxigenului cu tasta 2 fig. 4.1. b.

   Se apasă tasta calibrare 1 fig. 4.1.b și se repetă apăsarea până când apare modul de calibrare.

   Se apasă pe tasta RUN ENTER - 8 fig. 4.1.b. Tasta AUTO READ - clipește, se așteaptă valoarea stabilă. Pe ecran apară panta relativă

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

determinată şi evaluarea sondei. Se revine la modul de măsurare apăsând tasta M – 2 fig. 4.1.b.

4. Se introduce sonda de oxigen în mediul de măsură. Se selectează modul de măsură cu tasta M – 2 fig. 4.1.b. Pe ecran apare concentraţia în oxigen, sau saturaţia în oxigen sau presiunea parţială a oxigenului în funcţie de modul de măsură selectat.
5. Pentru înregistrarea datelor în memorie se apasă pe tasta STO – 6 fig. 4.1.b. Pe ecran apare poziţia de memorie alocată. Se confirmă cu tasta RUN ENTER – 8 fig. 4.1.b. Pe ecran apare interogarea numărului de identificare. Se introduce numărul de identificare cu tastele 7 şi 9 fig. 4.1.b.
6. Se comprimă cu RUN ENTER. Grupa de date este introdusă în memorie, apoi aparatul comută automat pe modul de măsură.

4.5.1.3. Determinarea consumului chimic de oxigen în apele reziduale – *lucrare practică*

Consideraţii teoretice:

Consumul chimic de oxigen reflectă totalitatea poluanţilor existenţi în apă. Substanţele organice şi anorganice oxidabile prezente în proba de analizat sunt oxidate cu soluţie standardizată, în exces, de permanganat de potasiu în mediu acid sau alcalin, în funcţie de conţinutul în cloruri al probei. Permanganatul în exces se titrează cu soluţie de acid oxalic, în mediu acid, la cald, până la decolorare [208].

***Reactivi necesari*:**

1) Acid sulfuric d = 1.84 g /cm^3;
2) Acid oxalic, soluţie 0.01 n (0.6303 g acid oxalic se dizolvă în acid sulfuric ρ=1.84 g /cm^3 diluat 1/ 15, se aduc într -un balon cotat de 100 cm^3 şi se păstrează în sticle de culoare brună);

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

3) $KMnO_4$, soluție de 0.01 n (0.32 g $KMnO_4$ în balon cotat de 1000 cm^3)
4) Na OH, soluție 30 %;
5) Metiloranj, soluție 0.1 %.

Mod de lucru

a) În cazul unui conținut de cloruri de până la 300 mg/ l

Proba de 100 cm^3 se aduce la fierbere, se adaugă 5 cm^3 H_2SO_4 şi 10 cm^3 soluție $KMnO_4$; se continuă fierberea 10 min, se adaugă 10 cm^3 acid oxalic. Proba decolorată se titrează imediat cu soluție de $KMnO_4$ până la apariția culorii roz, persistentă un minut. Rezultatele determinării sunt corecte când cantitatea adăugată de $KMnO_4$ consumată este mai mică de 50 % din cantitatea adăugată inițial în probă.

b) În cazul unui conținut de cloruri de peste 300 mg/ l

Proba de 100 cm^3 se aduce la fierbere, se adaugă 0.5 cm^3 soluție NaOH. Se adaugă 10 cm^3 soluție $KMnO_4$ şi se continuă fierberea 10 min. Las soluția fierbinte se adaugă cu grijă 5 cm^3 H_2SO_4 şi 10 cm^3 soluție de acid oxalic. Proba decolorată se titrează cu o soluție de $KMnO_4$ până la apariția culorii roz.

Mod de calcul:

$$KMnO_4 = \frac{(V_1 + V_2 - f - V_3}{V_4} 1000mg \text{ KmnO}_4/\text{ l} \qquad (4.5)$$

în care:

V_1 – volumul soluției de $KMnO_4$ de 0.01 n adăugat inițial, cm^3;
V_2– volumul soluției de $KMnO_4$ de 0.01 n întrebuințat în titrare, cm^3
f - factorul soluției de $KMnO_4$ de 0.01;
V_3– volumul soluției de acid oxalic 0.01 n adăugat în soluție, cm^3
C - cantitatea de $KMnO_4$, în mg, corespunzătoare la 1 cm^3 $KMnO_4$, soluție 0.01 n (0.316 mg);
V_4– volumul probei de apă luată în lucru, în cm^3
0.253 - cantitatea de oxigen, în mg, corespunzătoare la 1 mg $KMnO_4$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4.5.1.4. Determinarea consumului biochimic de oxigen- CBO_5 în ape de râu - lucrare practică

Considerații teoretice:

Consumul biochimic de oxigen (CBO) este un indice de calitate pentru apa potabilă sau reziduală, care dă informații despre conținutul aproximativ de substanțe organice degradabile pe cale biologică, prezente în apă.

Consumul biochimic de oxigen reprezintă cantitatea de oxigen care se consumă pentru degradarea oxidativă de către microorganisme a substanțelor organice conținute într-un dm^3 de apă. S-a stabilit, conventional, ca determinarea consumului biochimic de oxigen să se efectueze pentru o perioadă de incubare de mai multe zile (CBO_n), dar de regula de 5 zile ± 6 ore, (CBO_5). Consumul biochimic de oxigen se exprimă în mg/dm^3. Consumul biochimic de oxigen rezultă din diferența între concentrațiile oxigenului dizolvat în proba supusă analizei, la începutul şi sfârşitul perioadei de incubație. Incubarea probelor de apă, ca atare, saturate în oxigen, sau a probelor diluate în proporții convenabile cu apă de diluare saturată în oxigen si însămânțate, dacă e cazul, se realizează la temperatura de (20 ± 1)^0 C şi la întuneric.

Determinarea CBO_5 în probe de apă nediluate se aplică la probele de apă care au un CCO sau un consum de $KMnO_4$ până la 10 – 15 mg/dm^3. Peste această valoare este necesară diluarea probelor de apă deoarece au un conținut mare de substanțe organice [208].

Stabilirea orientativă a diluției maxime (D_{max}) se face astfel:

$$D_{max} = \frac{CCO(mg/dm^3)}{4.5} \quad \text{sau} \quad D_{max} = \frac{consKMnO_4(mg/dm^3)}{4.5} \qquad (4.6)$$

Reactivi necesari:

1) H_2SO_4 1 n ;
2) Albastru de bromtimol, soluție 0,1 % ;
3) NaOH 1 n;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4) Soluție de acid acetic (se diluează cu apă acid acetic glacial cu ρ= 1,049 g/cm^3, în raport de 1:1);
5) Amidon, soluție 1 % ;
6) Iodură de potasiu, soluție 10 % ;
7) Iod, soluție standard (se dizolvă 1,27 g iod şi 20 g KI în apă, într-un balon cotat de 1 000 cm^3 de sticlă brună), 1 cm^3 soluție standard corespunzând la 0,08 mg O_2 ;
8) Na_2SO_3, soluție 0,01 n (1,26 g Na_2SO_3 se dizolvă în apă, într-un balon cotat de 1000 cm^3).

Modul de lucru:

Dupa prelevarea probelor de apă se realizează o pregătire a acestora astfel:

1. Ajustarea pH-ului în domeniul 6,5 – 8,5 ;

2. Eliminarea interferențelor:

a) îndepărtarea clorului activ prin tratare cu Na_2SO_3 (cantitatea de Na_2SO_3 necesară se stabileşte astfel: la 100 cm^3 probă se adaugă 10 cm^3 soluție de KI si 10 cm^3 acid acetic; se titrează cu soluție de Na_2SO_3 în prezența de amidon ca indicator, până la dispariția culorii albastre; cantitatea consumată la titrare reprezintă tocmai cantitatea de Na_2SO_3 care trebuie adaugată în proba de apă).

b) îndepărtarea interferenței substanțelor anorganice consumatoare de oxigen, pe cale chimică, se realizează prin aerare intensa.

3. *Determinarea CBO_5 în probe de apă nediluate*

Proba pregatită se introduce în 3 flacoane de incubare. Într-unul din flacoane se determină concentrația inițială de oxigen dizolvat (OD_0). Celelalte două flacoane se introduc în incubator şi se mențin la temperatura de 20+_1 ^{0}C şi la întuneric timp de 5 zile. După perioada de incubare se determină concentrația de oxigen dizolvat rămas în probă (OD_5). Diferența (OD_0 - OD_5) reprezintă CBO_5 al probei analizate.

4. Determinarea CBO_5 pe probe de apă diluate.

Apa folosită pentru diluare se prepară astfel: la 1 000 cm^3 apă distilată, la 20^{0}C, se adaugă câte 1 cm^3 din următoarele soluții: $CaCl_2$ (27,5 g $CaCl_2$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

anhidră se dizolvă în apă, în balon cotat de 1 000 cm^3); $FeCl_3$ (0,25 g $FeCl_3 6H_2O$ se dizolvă în apă în balon cotat de 1 000 cm^3 şi acidulare cu H_2SO_4 conc., pH=2); $MgSO_4$ (22,5 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ se dizolvă în apă în balon cotat de 1000 cm^3) şi se tamponează la pH=7,2 folosind soluţie-tampon (8,5 g KH_2PO_4; 21,75 g K_2HPO_4; 33,4 g $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ si 1,7 g NH_4Cl).

Se determină în acelaşi timp CBO_5 al apei de diluţie CBO_5^d. Pentru o apă de diluţie de bună calitate se înregistrează valori ale CBO_5 de 0,1 – 0,5 mg/dm^3.

$$CBO_5 = \frac{1000}{V_p} (OD_0 - OD_5) - \frac{1000 - V_p}{1000} CBO_5 \ mg/dm^3 \qquad (4.7)$$

în care:

V_p – volumul apei de analizat conţinut în 1 000 cm^3 amestec, în cm^3/dm^3

4.5.1.5. Determinarea conţinutului de cloruri în ape de suprafaţă cu salinitate ridicată – lucrare practică

Consideraţii generale

Conţinutul de cloruri din apa potabilă se poate determina prin metoda mercurimetrică sau argintometrică. Metoda mercurimetrică se aplică la un conţinut de maximum 10 mg Cl^-/ l, iar cea argintometrică la un conţinut de 10 - 250 mg/l [208].

Principiul metodei

Se aduce proba de apă la un pH = 8,3 şi se precipită clorurile prin titrare cu soluţie de azotat de argint, în prezenţa cromatului de potasiu ca indicator. Punctul final al titrarii este evidenţiat de apariţia precipitatului de cromat de argint colorat în roşu-căramiziu.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Reactivii necesari

- Acid sulfuric 0,02 n
- Azotat de argint 0,1 n (titrisol)
- Cromat de potasiu, soluție: 5 g cromat de potasiu se dizolvă în 20 ml apă şi se adaugă soluție $AgNO_3$ 0.4791 % pâna la formarea unui precipitat roşu-cărămiziu de cromat de argint. Se lasa la întuneric 24 h, se filtrează şi se aduce filtratul la 100 ml cu apă.
- Fenolftaleina 1 % în alcool etilic 70 %
- Hidroxid de sodiu 0,02 n
- Apă oxigenată (3 % H_2O_2)
- Sulfat dublu de aluminiu si potasiu preparat astfel: se dizolvă 125 g $KAl(SO_4)12H_2O$ în circa 900 ml apă; se încalzeşte la 60 ^0C şi se adaugă treptat 55 g amoniac soluție (d=0,9). Se lasă 1 h, după care se decantează $Al(OH)_3$ format şi se spală cu apă până la eliminarea clorurilor din apele de spălare, verificarea făcându-se cu $AgNO_3$. Suspensia se diluază la aproximativ 1 000 ml şi se agită în momentul utilizării.

Modul de lucru

Într-un vas conic de 100 ml se introduc 50 ml apă de analizat prelucrată pentru îndepartarea interferențelor, câteva picături de fenolftaleina şi se aduce la punctul de viraj al indicatorului cu acid sufuric sau cu NaOH, înregistrându-se volumul de reactiv adăugat.

În alt vas se introduce altă probă de apă, similar preparată, şi se adaugă volumul de reactivi anterior determinat. Se adaugă apoi 1 ml de soluție de cromat de potasiu şi se titrează cu soluție de $AgNO_3$ până la apariția culorii roşu-cărămiziu persistente.

În paralel se efectuează şi o probă-martor ce conține 50 ml apă în locul probei de analizat.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Modul de calcul

Conținutul în cloruri se exprimă în mg Cl^-/dm^3 și se calculează cu relația:

$$Cloruri = \frac{(V_1 - V_0) f 35.46}{V} 100 \; [mg \; Cl^-/dm^3] \qquad (4.8)$$

în care:

V_1 – volumul soluției de $AgNO_3$ utilizat la titrarea probei, ml;

V_0 – volumul soluției de $AgNO_3$ utilizat la titrarea probei-martor, ml;

f – factorul de corecție al soluției de $AgNO_3$

35.46 – conținutul de clor corespunzător la 1 ml $AgNO_3$ 0,1 n, mg;

V – volumul de apă luat în lucru (50 ml).

4.5.1.6. Interpretarea rezultatelor pe baza scării de bonitate

Pe baza valorilor obținute pentru indicatorii de calitate luați în discuție se acordă note de bonitate în conformitate cu scara de bonitate prezentată în tabelul 4.1 [208].

Notele de bonitate obținute pentru fiecare indice servesc la realizarea unui grafic sub forma unei diagrame ce simulează efectul sinergic. Diagrama este o figură geometrică regulată cu un număr de colțuri egal cu numărul parametrilor analizați. Colțurile figurii se unesc cu centrul acesteia și segmentele se împart în zece părți egale, corespunzătoare scării de bonitate.

Această figură reprezintă starea ideală a sistemului (toate notele egale cu zece), iar starea reală se obține marcând pe segmentele interioare locul corespunzător notei de bonitate acordate si unindu-le între ele. Indicele stării de poluare se obține raportând suprafața ideală la suprafața reală (fig. 4.3.)

$$I_p = \frac{S_i}{S_r} \qquad (4.9)$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

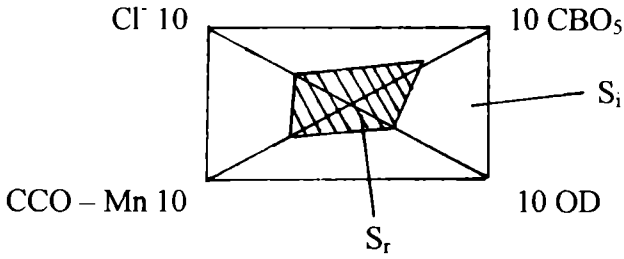


Figura 4.3. *Diagrama efectului sinergic*

4.6 PROCESELE DE ADSORBȚIE / DESORBȚIE

Datele de adsorbție / desorbție sunt necesare pentru evaluarea tendinței de migrare a compușilor chimici în aer, apă, sol. Aceste date sunt necesare pentru a estima volatilitatea din apă și sol precum și fotodegradarea substanțelor adsorbite pe suprafata aerosolilor. Procesele de adsorbție / desorbție, dând informații asupra proceselor de transport ale substanțelor chimice, aduc informații și asupra biotransformarii acestora.

Procesele de adsorbție / desorbție în și din diverse medii depind de caracteristicile fizico-chimice ale toxicului, de proprietățile adsorbantului și de parametrii mediului.

4.7 COEFICIENTUL DE REPARTIȚIE (N-OCTANOL / APĂ)

Coeficientul de repartiție (notat CP sau P) reprezintă raportul între concentrația substanței într-un solvent organic (C_1) și concentrația în apă (C_2) care se stabilește după dizolvarea substanței în sistemul celor doi solvenți nemiscibili :

$$P = \frac{C_1}{C_2} \qquad (4.10)$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tab. 4.1. *Scara de bonitate pentru apa de suprafață*

Note de bonotate	Categoriide apă	CCO-Mn (mg O_2/l)	OD (mg O_2/l)	NH^+_4 (mg/l)	CBO_5 (mg O_2/l)	Cl^- (mg/l)
10	Apă potabilă	≤ 2,5	conc. de satur.	0	5,0	25
9	Categ.I(a)	2,5-5,0	80-90% din conc. de satur.	0,5	5,0-5,5	25-200
8	Categ.I(b)	5-10	peste 6	0,5-1,0	5,5-6,0	200-250
7	Categ.II	10-15	5,0-6,0	1,0-3,0	6,0-7,0	250-280
6	Categ.III(a)	15-20	4,5-5,0	3,0-5,0	7,0-10	280-290
5	Categ.III(b)	20-25	4,0-3,5	5,0-10	10-12	290-300
4	Degradat nivel 1	25-50	3,5	10-20	12-14	350
3	Degradat nivel 2	50-100	3,0	20-50	14-16	400
2	Apă uzată nivel 1	100-500	2,0	50-100	16-20	450
1	Apă uzată nivel 2	500	1,0	100	20	450

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Dintre multiplele sisteme biologice cercetate (peste 100), sistemul n-octanol / apă s-a dovedit a modela cel mai adecvat pătrunderea, dizolvarea şi transportul substanţelor chimice în mediile biologice [191].

Substanţa se consideră hidrofobă dacă $P \geq 1$; când $P < 1$ substanţa este hidrofilă. Coeficientul de repartiţie n-octanol / apă este utilizat pentru a descrie transferul unei substanţe din mediul apos în organism şi potenţialul de bioacumulare al substanţei. Cercetările arată o relaţie înalt semnificativă între coeficientul de repartiţie al diferitelor substanţe şi bioacumularea acestora în organism [192].

4.8 ACTIVITATEA TERMODINAMICĂ

O serie de autori [15, 193] consideră ca toxicitatea poate fi exprimată în termeni de activitate termodinamică, pe care au definit-o ca fiind raportul între presiunea de vapori a unei substanţe la o concentraţie dată (concentraţia efectivă) şi presiunea vaporilor săi saturaţi, la aceeaşi temperatură. Activitatea termodinamică a diverşilor neelectroliţi este frecvent exprimată prin cifre de ordinul 0,1-0,9. O activitate termodinamică mult scazută denotă prezenţa unui mecanism de acţiune mai puţin « fizic », dar mai ales « chimic ».

În cadrul unei serii omologe, în general, activitatea termodinamică creşte cu numărul atomilor de carbon. Activitatea termodinamică a unui neelectrolit variază considerabil în funcţie de mecanismul sau de acţiune. De aceea, studiul acestei proprietăţi va aduce informaţii privind mecanismul de acţiune al poluanţilor.

4.9 ALŢI PARAMETRI

Densitatea gazelor, lichidelor insolubile în apă şi solidelor este utilizată pentru studiul persistenţei substanţelor în atmosfera zonelor de lucru.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Cunoaşterea *distribuţiei mărimii particulelor* aduce informaţii privind sedimentarea şi / sau transportul acestora în aerul zonelor de muncă.

Hidroliza în funcţie de pH este relevantă pentru persistenţa poluantului în mediu.

Constantele de disociere în apă prezintă importanţă în studiul impactului unei substanţe poluante asupra mediului privind transportul şi adsorbţia acesteia în celulele organismului.

Stabilitatea termică şi stabilitatea în aer dă informaţii privind reacţiile de descompunere cu eliminarea de produşi volatili.

Tensiunea superficială a soluţiilor apoase. Substanţele tensioactive strabat mai uşor membrana celulară ; de aceea, o creştere a tensiunii superficiale poate conduce la o creştere a toxicităţii.

Prezenţa proprietăţilor tensioactive, prin modificarea proprietăţilor interfaciale, poate duce la creşterea fotodegradării sau fotoconversiei.

Solubilitatea în grăsimi reprezintă una din datele utilizate pentru evaluarea depozitarii toxicelor în ţesuturile biologice.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

5. RELAȚII CANTITATIVE STRUCTURĂ CHIMICĂ – ACTIVITATE BIOLOGICĂ

Aspectele cantitative ale problemei structură chimică – activitate biologică au fost inițiate de Meyer si Overton la începutul acestui secol [21]. În concordanță cu acești autori, activitatea biologică a substanțelor chimice cu structura înrudită este în relație liniară cu proprietățile lor lipofilice. În lucrările acestor autori s-a propus utilizarea coeficientului de repartiție grăsime / apă pentru a descrie efectul narcotic al moleculelor organice de neelectroliți.

Ipoteza existenței unor relații între structura chimică şi activitatea biologică a fost mai târziu dezvoltată de noi studii cantitative privind influența structurii substanțelor asupra vitezei si echilibrului reacțiilor chimice.

Tehnicile QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationships) folosite pentru studiul acestor relații cantitative se pot clasifica în două categorii:

a) tehnici care aplică metodele statistice pentru corelarea datelor biologice cu un parametru arbitrar al unui anumit model si
b) tehnici care determină indicii electronici de reactivitate.

Din primul grup de tehnici fac parte trei metode si anume *analiza Hansch, metoda Free Wilson* şi *metoda de corelare structură - efect.*

Privind această ultimă metodă, nu este întrutotul justificată încadrarea în termenul QSAR deoarece aceasta se utilizează pentru stabilirea relațiilor în termeni de "tip de efect", adică pentru stabilirea relațiilor între structura unei substanțe si prezența sau absența unui anumit efect.

În al doilea grup de tehnici, pe baza teoriei orbitalilor moleculari se calculează *indicii electronici de reactivitate statici* (care se refera la starea fundamentală a moleculei) si *dinamici* (care se referă la moleculele aflate în stare excitată).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Pornind de la ideea că acumularea unei substanţe la locul de acţiune este funcţie de coeficientul de repartiţie, iar reactivitatea moleculei toxicului devine semnificativă după ce se realizează o concentraţie "critică" la "situsul receptor", Hansch a urmărit corelaţia între activitatea biologică, coeficienţii de repartiţie şi constantele Hammett.

5.1.1. Ecuaţia Hammett

Fie reacţia Y + R – X → Y – R + X, caracterizată de constanta de echilibru K. În termodinamică se arata că:

$$\ln K = -\frac{1}{RT}\Delta G^0 \qquad (5.1)$$

unde: T = temperatura absolută

ΔG^0 = variaţia entalpiei libere standard

R = constanta universală a gazelor

În cazul reacţiilor ireversibile, constanta de viteză, k, este funcţie de variaţia entalpiei libere de activare, $\Delta G^{\#}$, conform ecuaţiei:

$$k = \frac{K_B T}{h} e^{-\Delta G^{\neq}/RT} \qquad (5.2)$$

unde: K_B = constanta lui Boltzmann

h = constanta lui Planck

Din relaţia (5.2) se observă că o reacţie va avea o viteză cu atât mai mare cu cât entalpia liberă de activare este mai mică.

Reacţia decurge printr-o stare de tranziţie numită "complex activat" (fig.5.1). Starea de tranziţie Y...R...X reprezintă un stadiu de energie maximă a moleculelor si are o viaţa scurtă, disociindu-se spontan pentru a trece în produşii de reacţie.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

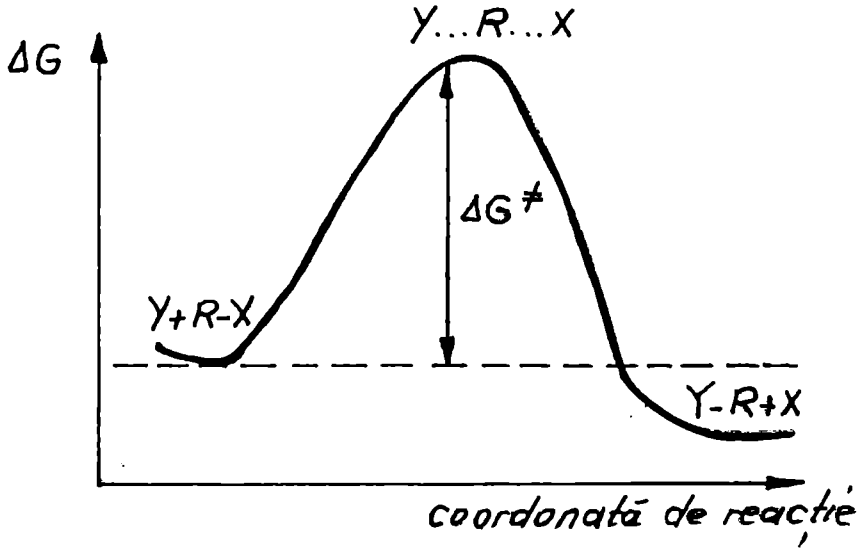


Fig.5.1. *Profilul energetic al reacției Y + R X - Y - R + X*

Entalpiile libere standard si de activare sunt dependente de entropiile standard, respectiv de activare conform relațiilor:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \qquad (5.3)$$

$$\Delta G^{\#} = \Delta H^{\#} - T\Delta S^{\#} \qquad (5.4)$$

unde: ΔH^0, $\Delta H^{\#}$ = entalpia standard, respectiv de activare

ΔS^0, $\Delta S^{\#}$ = entropia standard, respectiv de activare

Când în molecula unui compus se introduce un nou substituent este necesar să se cunoască cum va modifica acesta reactivitatea compusului. În acest caz, se poate determina cantitativ influența substitentului asupra entalpiei libere de activare (şi deci asupra constantei de viteza) dacă se poate parametriza o proprietate a substituentului. În acest sens, se consideră că pentru două sau mai multe reacții, variațiile entalpiei libere de activare ($\Delta G^{\#}$) sunt proporționale cu aceeaşi proprietate a substituentului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Fie compuşii $X_0 - M - Y$ si $X - M - Y$ în care X_0 si X sunt substituenţi, M este molecula suport, iar Y este centrul de reacţie; se consideră reacţiile acestor compuşi cu moleculele B si C:

$$X_0 - M - Y + B \xrightarrow{k_0} X_0 - M - Y' \qquad (5.5)$$

$$X - M - Y + B \xrightarrow{k_X} X - M - Y'$$

si

$$X_0 - M - Y + C \xrightarrow{k_0'} X_0 - M - Y'' \qquad (5.6)$$

$$X - M - Y + C \xrightarrow{k_X'} X - M - Y''$$

caracterizate de constantele de viteza k_0 (respectiv k_0') pentru compusul nesubstituit şi k_x (respectiv k_x') pentru compusul substituit. Reacţia (5.5) ce conţine substituentul standard X_0 se consideră drept reacţie standard.

Fie χ acea proprietate a substituentului care este proporţională cu variaţia entalpiei libere de activare.

Când substituentul X_0 este înlocuit prin X se poate scrie:

$$\Delta G_X^{\neq} - \Delta G_0^{\neq} = C_1\chi \quad (\text{pentru reacţia 5.5}) \qquad (5.7)$$

$$\left(\Delta G_X^{\neq}\right)' - \left(\Delta G_0^{\neq}\right)' = C_2\chi \quad (\text{pentru reacţia 5.6})$$

Împarţind relaţiile (5.7) rezultă:

$$\left(\Delta G_X^{\neq}\right)' - \left(\Delta G_0^{\neq}\right)' = \frac{C_2'}{C_1'} \left(\Delta G_X^{\neq} - \Delta G_0^{\neq}\right) \qquad (5.8)$$

Utilizând rel.(5.2) se obţine urmatoarea relaţie liniară de energie liberă:

$$\log \frac{k_X'}{k_0'} = \frac{C_2'}{C_1'} \log \frac{k_X}{k_0} \qquad (5.9)$$

Relaţia (5.9) arată *efectul schimbarii substituentului asupra constantei de viteză* : factorul C_2/C_1 arată susceptibilitatea centrului de reacţie Y faţă de variaţia substituentului în comparaţie cu aceea din reacţia standard, iar log k_X/k_0 indică efectul rezultat asupra reacţiei standard prin schimbarea substituentului.

Raportul C_2/C_1 se notează cu ρ si se numeşte *constantă de reacţie* deoarece este o mărime caracteristică a reacţiei compusului substituit în raport cu

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

reacția în care este implicat compusul nesubstituit (reacția standard). Hammett a considerat drept reacție standard ionizarea în apă a acizilor meta- si para-substituiți la 25^0C, iar drept substituent standard a fost considerat hidrogenul.

Factorul $\log k_X/k_H$ a fost notat cu σ si se numeste *constantă de substituent.* Prin definiție $\sigma_H = 0$. σ are valori negative pentru substituenții donori de electroni si valori pozitive pentru cei acceptori de electroni.

Cu aceste notații, rel.(5.9) devine:

$$\log \frac{k_X'}{k_0'} = \rho \cdot \sigma \qquad (5.10)$$

În relația (5.10), care reprezintă *ecuația Hammett,* constanta de reacție ρ exprimă susceptibilitatea reacției studiate față de schimbarea substituentului, iar constanta de substituent, σ, arată influența substituenților asupra constantei de viteză a reacției în care participă compusul substituit fată de constanta de viteză a reacției în care participă compusul nesubstituit [194,195].

Relația (5.10) care se poate scrie sub forma:

$$\log k_X = \rho\sigma - \log k_0 \qquad (5.11)$$

reprezintă ecuația unei drepte în care ρ este coeficientul unghiular iar $\log k_0$ este interceptul la ordonată.

Ecuația Hammett, care reprezintă o relație liniară de energie liberă, se aplică când se respectă urmatoarele condiții:

- mărimile care interacționează trebuie să fie clare pentru ca interacția dintre substituentul X si centrul de reacție Y să se poată exprima sub forma unui produs de doi factori ρ si σ;

- variațiile structurale produse de schimbarea substituenților trebuie sa fie mici;

- substituentul X din compusul X – M – Y trebuie să influențeze centrul de reacție Y printr-un singur efect, de ex.numai inductiv.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În cele ce urmează se vor face câteva considerații asupra celor două constante, ρ si σ.

Constanta de reacție "ρ"

Constanta de reacție indică uşurința cu care se transmit efectele electronice ale substituenților X până la centrul de reacție Y.

Hammett a dat următoarea relație pentru ρ [16]:

$$\rho = \frac{1}{RTd^2}\left(\frac{B_1}{D} + B_2\right) \qquad (5.12)$$

unde: R = constanta universală a gazelor

T = temperatura absolută la care are loc reacția

d = distanța de la substituent la centrul de reacție

D = constanta dielectrică a solventului

B_1 = constanta ce depinde de interacția dintre reactant si mediu

B_2 = constanta ce exprimă sensibilitatea reacției față de modificarea densităților electronice.

În cazul reacțiilor electrofile, ρ este negativ, iar în cele nucleofile ρ este pozitiv.

Constanta de substituent "σ"

Efectele electronice ale substituenților asupra centrului de reacție se pot manifesta fie printr-o interacție directă (numită "efect de câmp") fie printr-o interacție transmisă prin sistemul de electroni π şi/sau σ. Aceasta ultimă interacție este dată de:

1. efectul inductiv (I):
   - prin polarizare (efect inductiv static, I_s)
   - prin polarizabilitate (efect inductiv dinamic, I_d – are loc numai în starea de tranziție)
2. efectul de conjugare (E):
   - prin polarizare (efect mezomer, E_s)
   - prin polarizabilitate în stare dinamică (efect electromer, E_d).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Dacă M din molecula X – M – Y este un nucleu aromatic, atunci interacţia dintre substituentul X si centrul de reacţie Y poate avea la baza atât un efect inductiv cât şi un efect de conjugare; în acest caz constanta σ exprimă ambele efecte.

Deoarece σ exprimă două tipuri de efecte electronice, ecuaţia Hammett a prezentat abateri de la liniaritate cand X a avut efect – E (- NO_2, - COOH), iar Y a avut efect + E (- OH, - NH_2) (fig.5.2).

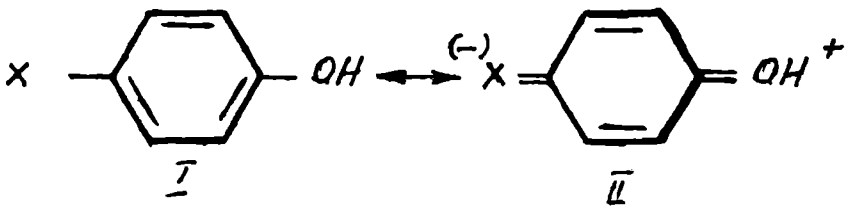


Fig.5.2. *Conjugarea electronică între substituentul de ordinul I (efect + E) şi cel de ordinul II (efect E) grefaţi pe nucleul aromatic.*

În acest caz se folosesc două valori pentru σ: σ^+ si σ^- (constanta σ^- se utilizează când structura II câştigă în importanţă). Când substituentul X are efect + E iar centrul de reacţie are efect – E, pentru σ se folosesc valorile σ si σ^+.

Întrucât în urma conjugarii electronice între un substituent şi centrul de reacţie are loc o intensificare a polarizării centrului de reacţie, se poate scrie $\sigma^- > \sigma$ si $\sigma^+ < \sigma$.

Constantele σ sunt, în principiu aditive. Dacă un compus conţine doi sau mai mulţi substituenţi, constantele lor σ pot fi sumarizate.

Trebuie menţionat faptul că ecuaţia Hammett nu este adecvată determinarii parametrilor de toxicitate si de activitate biologică a compuşilor aromatici polisubstituiţi.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

5.1.2. Ecuația Taft

Ulterior Taft a efectuat studii asupra efectului *inductiv*, determinând σ pentru o serie de compuși alifatici si aromatici (derivați benzenici orto–substituiti) și de asemenea a definit constantele de substituent ale efectului *steric*.

5.1.2.1. Constantele de substituent inductive

Pentru studiul efectului electronic inductiv, Taft a considerat drept reacție standard, hidroliza unor esteri în cataliza acidă si bazică. În acest caz, ecuația Hammett se poate scrie:

$$\log (k/k_0)_B - \log (k/k_0)_A = \sigma^* (\rho_B - \rho_A) \qquad (5.13)$$

unde A si B = indici ce semnifică hidroliza in cataliza acidă, respectiv bazică

σ^* = constanta de substituent ce indică numai efecte inductive

Taft a considerat drept substituent standard grupa metil; de aceea $\sigma^*_{CH_3} = 0$

În scopul studierii efectelor inductive la derivații aromatici, Taft a considerat drept reacție standard hidroliza esterilor o – X – C_6H_4 – COOR (unde R = CH_3 sau C_2H_5).

Pe baza determinarilor experimentale s-a stabilit o relație între constantele de reacție ρ ale seriei alifatice si aromatice:

$$\rho_0 - X - C_6H_4 - Y / \rho_{alif} = 2,48 \qquad (5.14)$$

Trebuie precizat faptul că aceste constante de substituent inductive exprimă cantitativ urmatorii parametrii electronici:

- polaritatea legaturilor din substituentul X
- electronegativitatea primului atom al substituentului X
- gradul de hibridizare al orbitalelor acestor atomi
- efectul dipolului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Deoarece valorile lui σ^* pot fi folosite pentru corelarea unor date fizice ale substanțelor organice, σ^* a fost numită *constantă inductivă universală.*

5.1.2.2. Constantele de substituent care descriu efectul steric

Considerând drept reacție standard hidroliza acidă a esterilor, Taft a definit *constanta sterică de substituent,* E_s prin relația:

$$E_s = \log (k / k_0)_A \qquad (5.15)$$

S-a constatat că efectele sterice nu sunt aditive, iar valorile E_s cresc cu creșterea razei van der Waals.

În accepțiunea lui Taft, măsura sensibilității unei reacții la modificările sterice ale substituenților este exprimată de constanta de reacție δ, definită de relația:

$$\log k / k_0 = \delta E_s \qquad (5.16)$$

Ulterior, relația (5.16) a fost înlocuită printr-o relație mai complexă, cu aplicabilitate mai largă, de tipul:

$$\log k / k_0 = \rho \sigma^* + \delta E_s \qquad (5.17)$$

5.1.2.3. Separarea efectelor inductive de cele de conjugare în compușii meta- si para- substituiți

Taft a considerat pentru compușii aromatici meta- si para- substituiti că [195]:

$$\log k_{px} k_0 = I + E \qquad (5.18)$$

si deci:

$$\log k_{mx} / k_0 = I + E_m = I + \alpha E_p \qquad (5.19)$$

unde: m si p = indici ce se referă la pozițiile meta, respectiv para

I = efect inductiv

E = efect electromer

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

$\alpha = \frac{1}{10} sau \frac{1}{3}$ dupa cum are loc sau nu conjugarea directă a lui X cu Y.

Efectul *inductiv* este descris prin ecuația:

$$I = \rho_I \sigma_I = \frac{1}{1-\alpha}(\log k_{mx} / k_0) - \log(k_{px} / k_0) \qquad (5.20)$$

Efectele de *conjugare* sunt reflectate de constanta $\bar{\sigma}_R$ care este dată de relația:

$$\bar{\sigma}_R = \frac{1}{\rho} \log k / k_0 - \sigma_I \qquad (5.21)$$

unde $\bar{\sigma}_R$ poate fi redat de doua constante, $\sigma_R^+ sau \sigma_R^-$ în funcție de natură centrului de reacție:

$$\sigma_R^+ = \sigma^+ - \sigma_I \text{ si } \sigma_R^- = \sigma^- - \sigma_I \qquad (5.22)$$

5.1.2.4. Constante de substituent care descriu radicalii liberi

S-a încercat stabilirea de ecuații tip Hammett in cazul reacțiilor în care apar radicali liberi.

Drept reacție standard s-a considerat extragerea unui atom de H din derivații de cumen substituiți la nucleu. Ecuația care s-a dovedit a exprima cel mai adecvat contribuția substituenților la stabilizarea radicalilor liberi este următoarea [195]:

$$\log k / k_0 = \rho\sigma + \Upsilon E_R \qquad (5.23)$$

unde: E_R = constanta de substituent radicalic

Drept substituent standard s-a ales hidrogenul.

5.1.3. Ecuația Zahradnik

Ecuația lui Hammett a fost ameliorată de Zahradnik care a propus ecuații mono- si bicomponente pentru determinarea gradului de toxicitate al substanțelor

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

şi a insistat asupra relaţiei cu substanţa vehicul care transportă substanţele la locul de acţiune şi asupra interacţiei chimice cu receptorul.

Zahradnik a propus o ecuaţie similară celor lui Hammett si Taft [196, 197]:

$$\log \frac{\tau_i}{\tau_{et}} = \alpha\beta \qquad (5.24)$$

unde: τ_i = activitatea biologică a compusului i

τ_{et} = activitatea biologică a derivatului etilic

β = constantă ce depinde de activitatea biologica a substituentului (pentru derivatul etilic $\beta = 0$)

α = constantă ce depinde de parametrii sistemului(obiectul test biologic si derivatul etilic)

Discrepanţele obţinute între rezultatele calculate utilizând relaţia (5.24) şi valorile reale au fost raportate la modificarile mecanismului de acţiune al membrului seriei omologe a cărui toxicitate se studiază. În cazul unor serii omologe, relaţia (5.24) nu s-a putut aplica, probabil datorită faptului că efectul nu este raportat la o singură reacţie.

Conform teoriei lui Zahradnic, efectul biologic trebuie raportat de asemenea şi la substanţa *vehicul* care transportă substanţă la locul de acţiune, precum şi la *interacţia chimică* cu receptorul. Luând în consideraţie aceste două aspecte, Zahradnik a propus o ecuaţie mai complexă, de tipul:

$$\log \frac{\tau_i}{\tau_{et}} = \sum_i X_i + y\delta_i \qquad (5.25)$$

unde: δ_i = constantă analoga constantei σ din ecuaţia Hammett

X_i = constantă raportată la efectele substituentului i din punct de vedere al impactului acestuia asupra proprietaţilor fizice ale compusului studiat; X_i poate fi înlocuit prin coeficientul de repartiţie ulei / apă.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Zahradnik si colab. [198] într-un studiu efectuat asupra a 45 compuşi, au stabilit o corelaţie între structura si toxicitatea derivaţilor disubstituiţi ai benzenului. Autorii au determinat valorile DL_{50} după administrare intravenoasă la şoareci albi a celor 45 compuşi utilizând drept substituenţi X si Y grupe NO_2, Cl, CH_3 si NH_2 în poziţiile meta si para si au stabilit următoarea relaţie:

$$\log \frac{(DL_{50})_{HH}}{(DL_{50})_{XY}} = B_X + B_Y + l_X \cdot l_Y \qquad (5.26)$$

unde: $(DL_{50})_{HH}$ si $(DL_{50})_{XY}$ = valorile DL $_{50}$ pentru derivatul nesubstituit, respectiv derivatul disubstituit

B_X si B_Y = constante care ţin seama de efectul substituenţilor asupra toxicităţii

l_X . l_Y = factor raportat la interacţia substituenţilor.

Ljublina [15] încercând să aplice relaţia (5.26) pentru calculul CL_{50} si a limitelor maxime admise pentru derivaţii mono- si disubstituiţi ai benzenului, nu a obţinut în toate cazurile valori concordante cu cele reale.

5.1.4. Ecuaţia Hansch

Ideea de bază a modelului Hansch este că o anumită activitate biologică într-o serie de compuşi înrudiţi structural este determinată de suma proprietaţilor hidrofobe, electronice si sterice ale moleculelor [7, 199, 200].

Hansch consideră că modelarea acţiunii biologice a unei substanţe (substrat) poate fi redată printr-o succesiune de etape:

$$S \xrightarrow[1]{} S + R \xrightarrow{k_X} RB$$

(in faza extracelulara) (in faza celulara)

unde: S= substrat (substanţa poluantă)

R = recéptor

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

RB = răspuns biologic

k_x = constantă de viteză a reacției determinante de viteză

Aceste etape sunt îndepartate în timp şi spațiu de răspunsul biologic, RB (de ex.DL_{50}).

Fie C concentrația molară a substanței poluante la locul pătrunderii; în intervalul de timp Δ t, concentrația la partea activă a receptorului va fi A.C (unde A = probabilitatea ca poluantul să ajungă la partea activă a receptorului şi să producă răspunsul biologic în intervalul de timp Δ t).

Viteza de reacție a producerii RB este dată de relația:

$$\frac{dRB}{dt} = A \cdot k_X \cdot C \qquad (5.27)$$

Pentru a descrie modul cum substanța poluantă interacționează cu biofaza, Hansch a indicat utilizarea coeficienților de repartiție lipide / apă [199].

Pentru a exprima mişcarea unei substanțe prin țesuturi s-a utilizat următoarea relație liniară de energie liberă [195]:

$$\log P_{bio} = a \log P_{sol} + b \qquad (5.28)$$

unde: P_{bio} = coeficientul de repartiție al poluantului între faza apoasă si biofaza în care

se produce raspunsul biologic standard observat

P_{sol} = coeficientul de repartiție determinat experimental într-un solvent de referință

a, b = constante

Într-o serie de cazuri, după creşterea activității biologice paralel cu coeficientul de repartiție, activitatea scade o dată cu creşterea caracterului lipofil. Explicația rezidă în faptul că un membru al unei serii omologe care are coeficientul de repartiție ulei / apă aproape zero, este solubil în apă, dar nu poate traversa o membrană lipoidică.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Dimpotriva, o substanță al cărei coeficient de repartiție tinde spre ∞ nu poate traversa o membrană hidrofilă. De aceea, numai substanțele care au un coeficient de repartiție ideal (notat P_0) cuprins intre 0 si ∞, vor putea traversa atât membranele hidrofobe cât si cele hidrofile.

Considerând un coeficient de repartiție ulei / apă ideal, s-a admis că răspunsul biologic RB are o distribuție gaussiană față de coeficientul de repartiție. În acest caz, factorul A de probabilitate se definește termodinamic prin relația:

$$A = a\, e^{-\frac{(\log P - \log P_0)^2}{b}} \tag{5.29}$$

unde: $\log P_0$ = valoarea pentru care variația energiei libere este minimă când substanța trece din apă în lipide într-o situație de neechilibru.

Introducând relația (5.29) în relația (5.27) se obține:

$$\frac{dRB}{dt} = a \cdot e^{-\frac{(\log P - \log P_0)^2}{b}} \cdot k_X \cdot C \tag{5.30}$$

Considerând că în cazul existenței unui răspuns biologic standard (R.S.), concentrația substanței în biofaza, C_{bio}, este constantă, coeficientul de repartiție într-un sistem biologic, P_{bio}, se poate scrie:

$$(P_{bio})_{R.S.} = \frac{C_{bio}}{C_{H_2O}} = \frac{const}{C_{H_2O}} \tag{5.31}$$

$$\text{sau } \log\frac{1}{C_{H_2O}} = \log(P_{bio})_{R.S.} - \log const. \tag{5.32}$$

Înlocuind relația (5.28) în relația (5.32) se obține:

$$\log\frac{1}{C_{H_2O}} = a \log P_{sol} + const. \tag{5.33}$$

Logaritmul inversului concentrației molare a substratului (substanței poluante) ($\log\frac{1}{C}$) exprimă răspunsul biologic (de ex.DL_{50}); de aceea, $\frac{dRB}{dt}$ din relația

.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

(5.30) se va înlocui prin $\log\frac{1}{C}$. Logaritmând ecuația (5.30) şi ținând cont că log P_0 = const., rezultă:

$$\log\frac{1}{C} = -k_1(\log P)^2 + k_2 \log P + \log k_X + k_3 \qquad (5.34)$$

unde: $k_1 \log (P)^2$ si $k_2 \log P$ = probabilitatea ca o substanță să ajungă la receptor în intervalul de timp Δ t.

$\log k_X$ = logaritmul constantei de viteză a reacției determinante de viteză (conceputa ca o reacție de ordinul I) si care se poate exprima printr-o relație liniara de tip Hammett

Hansch a propus urmatoarea schemă pentru interacțiunea propriu-zisă a unei substanțe cu receptorul:

$$S + R \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} SR \underset{k_4}{\overset{k_3}{\rightleftharpoons}} P_r.R \underset{k_6}{\overset{k_5}{\rightleftharpoons}} P_r + R \qquad (5.35)$$

unde: SR = substrat (poluant) adsorbit pe receptor

$P_r.R$ = substrat modificat

P_r = produşi de reactie

Considerând constanta de viteză k_3 determinanta de viteză pentru reacția de transformare a poluantului în substrat modificat, se poate scrie că viteza de producere a substratului modificat, v, este dată de relația:

$$v = k_3 [SR] \qquad (5.36)$$

Înlocuind [SR] dat de relația [conform reacției de echilibru redată de relația (5.35)]:

$$[SR] = \frac{[S]\cdot[R]\cdot k_1}{k_2} \qquad (5.37)$$

în ecuația (5.36) se obține, prin logaritmare:

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

$$\log v = \log k_3 + \frac{\log k_1}{\log k_2} + \log[S] + \log[R] \qquad (5.38)$$

Deoarece reacția determinantă de viteză s-a considerat ca fiind o reacție de ordinul I, [S] și [R] în relația (5.38) sunt constante.

Producerea reacției determinante de viteză depinde de energia liberă molară de formare a substratului modificat ($P_r.R$). Hansch a presupus că această energie liberă molară de formare, $\Delta G_{P_r \cdot R}$, este constituită din suma contribuțiilor de interacție electronice, de desolvatare a complexului $P_r.R$, sterice si conformaționale între substrat si receptor:

$$\Delta G_{P_r \cdot R} = \Delta G^e + \Delta G^d + \Delta G^s + \Delta G^p + \Delta G^e (\Delta G^d + \Delta G^s + \Delta G^p) + \Delta G^d (\Delta G^e + \Delta G^s + \Delta G^p) + \Delta G^s (\Delta G^e + \Delta G^d + \Delta G^p) + \Delta G^p (\Delta G^e + \Delta G^d + \Delta G^s) \qquad (5.39)$$

Neglijând termenii care exprimă interferența între componentele menționate, se obține:

$$\Delta G_{P_r \cdot R} = \Delta G^e + \Delta G^d + \Delta G^s + \Delta G^p + \text{const.} \qquad (5.40)$$

unde: ΔG^e, ΔG^d , ΔG^s ,ΔG^p = contribuțiile independente ale interacțiilor electronice, de desolvatare, sterice și conformaționale dintre poluant si receptor

Când într-o serie omologă, substanțele se deosebesc printr-un singur substituent, relația (5.40) devine:

$$\delta(\Delta G_{P_r \cdot R}) = \delta\left(\Delta G_n^e\right) + \delta\left(\Delta G_n^d\right) + \delta\left(\Delta G_n^s\right) + \delta\left(\Delta G_n^p\right) \qquad (5.41)$$

unde: n = indice care arată numărul termenilor din seria de compuși luată în studiu

Relația (5.41) exprimă variația în producerea reacției determinante de viteză și implicit în apariția răspunsului biologic.

Considerând contribuția modificărilor conformaționale, $\delta\left(\Delta G_n^p\right)$ constatată într-o serie studiată, relația (5.38) se poate scrie sub forma unei relații liniare de energie liberă în care efectele electronice ale substituenților asupra

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

constantei de viteza k_x să fie reflectate de constanta Hammett, iar variația energiei libere de desolvatare să fie redata de constanta de substituent de hidrofobicitate (π) [199]:

$$\log k_x = a\sigma + b\pi + cE_s + k \qquad (5.42)$$

unde: σ = constanta de substiuent Hammett (care exprimă efectele electronice inductive si de conjugare asupra constantei de viteza k_x)

π = constanta de substituent de hidrofobicitate, definită de Hansch si Fujita [7, 199] prin relația: $\pi = \log P_x - \log P$ (unde P_x = coeficientul de repartiție al unui compus substituit iar P = coeficientul de repartiție pentru compusul nesubstituit)

E_s = constanta sterică de substituent (arată variația efectelor sterice produse de substituent)

Constanta de substituent de hidrofobicitate, π, arată contribuția substituentului la formarea legaturii hidrofobe $P_r - R$.

Înlocuind $\log k_x$ din relația (5.42) în relația (5.34) şi utilizând în loc de log P pe π, rezultă:

$$\log \frac{1}{C} = -k_1\pi^2 + k_2\pi + k_3\sigma + k_4E_s + k_5 \qquad (5.43)$$

Relația (5.43) reprezintă *ecuația Hansch de energie liberă pentru calculul activității biologice din date de structură chimică.* Deoarece în această ecuație coeficientul k_2 include atât coeficientul k_2 din relația (5.34) cât şi coeficientul b din relația (5.42) rezultă ca nu poate fi separat aportul factorului log P în transportul substanței poluante de rolul acestuia în etapa determinantă de viteză.

Considerații privind definirea coeficientului de repartiție.

Asa cum s-a amintit în cap. 5.1.4., Hansch a indicat utilizarea *coeficientului de repartiție*, P, lipide / apă pentru a descrie transportul unei substanțe în biofază.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Termenul de *legatură hidrofobă* este, de asemenea, utilizat pentru a descrie schimbările de energie libera care au loc la trecerea substanței din faza apoasă în biofază. Există dificultăți în definirea termenului de "legatură hidrofobă". De exemplu, repartiția unei molecule polare între heptan si apă diferă de repartiția aceleiaşi molecule între octanol si apă. Îndepartarea învelişului de molecule de apă de solvatare din jurul substanței organice la trecerea acesteia în faza lipidică are rol important în repartiție. Această desolvatare nu este identică pentru cele doua tipuri de repartiții (apă / heptan si apă / octanol).

Când se alege un solvent de referință în scopul modelării efectelor hidrofobe în organism se pot considera două cazuri. Un prim caz constă în selectarea unei hidrocarburi (de ex.heptan) în care au loc un numar de interacții între solvent si solvat. În acest caz, coeficientul de repartiție reflectă desolvatarea moleculelor de apă din jurul solvatului, cât si energia necesară ruperii legăturii de hidrogen solvat – apă. Acest sistem descrie adecvat repartiția în sisteme biologice a substanțelor de tip alcool. Un alt caz este folosirea unui solvent cât mai apropiat de biofază. Hansch si colab.au arătat că sistemul de solvent de referință care descrie cel mai adecvat comportamentul substanțelor în biofază este *sistemul octanol apă*. Funcțiunea – OH a octanolului functionează atât ca donor cât şi ca acceptor într-o legatură de hidrogen, reprezentând astfel un model excelent pentru a descrie interacția cu biofaza. Acest model se utilizează atât pentru a descrie interacțiile de natură hidrofobă, nespecifică, dar se poate folosi si atunci când legătura de hidrogen ocupă un loc important în interacția substanță – receptor (în acest caz, influența electronică a diferiților substituenți asupra legăturii de hidrogen se redă cu ajutorul constantelor σ Hammett).

Privind *constantele de substituent de hidrofobicitate*, π, acestea au fost calculate cu ajutorul relației [7]:

$$\pi(X) = \log P(C_6H_5X) - \log P(C_6H_6) \qquad (5.44a)$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Constantele π de substituent de hidrofobicitate, ca şi constantele σ sunt aditive, adică dacă mai mulţi atomi de H dintr-o structură particulară R sunt înlocuiţi prin substituenţi (X_1, X_2....), log P poate fi obţinut conform relaţiei:

$$\log P\,(RX_1X_2\ldots) = \log P\,(RHH\ldots) + \pi X_1 + \pi X_2 + \ldots \qquad (5.44b)$$

Concluzionând, se poate afirma că P si π reprezintă parametri buni pentru descrierea interacţiilor hidrofobe. Când ecuaţia Hansch este aplicată unei serii de analogi structurali, atunci P poate fi înlocuit prin π.

Pentru descrierea interacţiilor electrostatice şi a celor existente în cazul legăturilor de hidrogen se folosesc constantele σ Hammett.

În tabelul 5.1. sunt listate constantele de substituent de hidrofobicitate π, constantele σ Hammett si constantele Taft, E_s, pentru unii compuşi aromatici [7].

Tabel 5.1. *Constantele de substituent π, σ si E_s pentru unii compuşi aromatici*

Substituent (X)	π	σ_{meta}	σ_{para}	E_s
H	0.00	0.00	0.00	1.24
F	0.14	0.34	0.06	0.78
Cl	0.71	0.37	0.23	0.27
Br	0.86	0.39	0.23	0.08
I	1.12	0.35	0.18	-0.16
NO_2	-0.28	0.71	0.78	-1.28
NH_2	-1.23	-0.16	-0.16	0.63
OH	-0.67	0.12	-0.37	0.69
CN	-0.57	0.56	0.66	0.73
CH_3	0.56	-0.07	-0.17	0.00
$CH_2CH_2CH_3$	1.55	0.07	-0.13	-0.36
C_6H_5	1.96	0.06	-0.01	-

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Ecuația Hansch, care a fost utilizată pentru prevederea efectelor biologice ale compușilor nestudiați sau nesintetizați înca a fost aplicată în diverse variante. Alegerea formei celei mai convenabile pentru fiecare serie de compuși, s-a efectuat pe baza unor raționamente statistice (calculul coeficientului de corelație și al deviației standard) [7].

5.1.4.1. Exemple de analiză Hansch în cazul unor poluanți industriali

1. Anilina si derivați

Utilizând ecuația Hansch, s-a studiat hidroxidarea anilinei si a 11 derivați ai acesteia, proces care are loc în *microzomii din ficat,plămân si rinichi* [7]. Grupul de derivați studiați a constat din 4 compuși care diferă prin substituentul atomului de azot si 7 compuși care au diferiți substituienți în poziția 3 a nucleului aromatic. Hidroxilarea anilinei și a derivaților săi are loc în poziția 4 (fig.5.3).

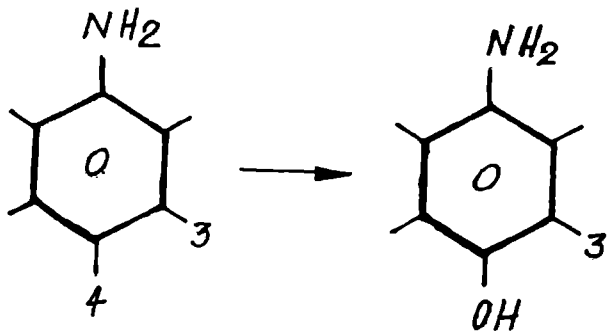


Fig.5.3. *Hidroxilarea derivaților anilinei.*

În tabelul 5.2. sunt date valorile parametrilor log P, σ, E_s și log RB (răspunsul biologic reprezintă hidroxilarea compușilor studiați în microzomi).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tabel 5.2. *Valorile log P, σ, E_s şi răspunsului biologic la derivaţi ai anilinei*

Compus	log P	σ	E_s	log RB[b]	
				experimental	calculat[c]
H (anilina)	0.90	0.00	1.24	1.72	1.67
N – C_4H_9	3.16	0.00	1.24	2.31	2.33
N – C_3H_7	2.66	0.00	1.24	2.21	2.20
N – C_2H_5	2.16	0.00	1.24	2.14	2.06
N – CH_3	1.66	0.00	1.24	1.76	1.93
3 – Cl	1.88	0.37	0.27	1.71	1.64
Compus	log P	σ	E_s	log RB[b]	
				experimental	calculat[c]
3 – F	1.30	0.34	0.78	1.69	1.66
3 – Br	2.07	0.39	0.08	1.64	1.62
3 – I	2.37	0.35	- 0.16	1.58	1.62
3 – CH_3	1.40	- 0.07	0.00	1.50	1.41
3 – NO_2	1.37	0.1	- 1.28	0.88	0.94
3 – OCH_3[d]	0.93	0.12	0.69	0.57	1.53

a. Răspunsul biologic este reprezentat de hidroxilarea produsă în microzomii din ficat,
plămân şi rinichi, la iepure
b. Răspunsul biologic este dat ca % de substrat transformat
c. Calculat din ecuaţia nr.5.50 (tabel 5.3)
d. Acest compus nu a fost inclus în ecuaţiile QSAR datorită diferenţei mari între log RB experimental si calculat

Dacă se aplică datelor din tabelul 5.2 analiza de regresie liniară multiplă pot fi obţinute, în principiu , şapte ecuaţii (tabelul 5.3)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tabel 5.3. *Ecuațiile QSAR obținute prin aplicarea analizei de regresie liniară multiplă setului de date din tabelul 5.2.*

log RB = (n = 11)	Coef.de corelație (r)	Deviația standard (DS)	Nr. ecuației
0.39 log P + 1.01	0.65	0.31	5.45
- 1.12 σ + 1.95	0.72	0.29	5.46
$0.41E_S$ +1.52	0.88	0.20	5.47
0.31log P + 0.96σ +1.32	0.89	0.20	5.48
$0.27\log P + 0.36E_s + 1.03$	0.98	0.08	5.49
$-0.07\sigma + 0.40E_s + 1.54$	0.88	0.21	5.50
$0.27\log P - 0.106\sigma + 0.34E_s + 1.06$	0.98	0.08	5.51

Se observă din tabelul 5.3 că cele mai bune corelații s-au obținut în cazul ecuațiilor (5.49) și 5.51 (r = 0,98); totuși ecuația (5.51) nu este mai bună decât ecuația (5.49) (valorile DS sunt aceleași). Se poate trage concluzia că introducerea parametrului σ nu a condus la o ecuație mai bună. Cu alte cuvinte diferențele privind distribuția electronică datorate substituției în poziția 3 nu influențează gradul de hidroxilare. Se observă, de asemenea, că o descriere adecvată a datelor experimentale necesită utilizarea atât a coeficientului de repartiție n – octanol / apă, P, cât și a constantei sterice, E_s. Cu alte cuvinte, atât hidrofobicitatea (log P) cât și factorii sterici (E_s) influențează hidroxilarea. De asemenea, valorile coeficienților din ecuația (5.49) arată că RB descreşte când mărimea substituentului creşte. Explicația dată acestui fapt a fost că prezența unor substituenți voluminoși în poziția 3, împiedică apropierea enzimei, rezultând o conversie slabă a substratului.

Comparând log RB calculat cu cel experimental se constată, în general, o bună corelație.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Din acest exemplu reiese că metabolismul acestor derivați ai anilinei poate fi descris adecvat cu ajutorul ecuației Hansch. De asemenea, se consideră că ecuația (5.49) poate fi utilizată, în principiu, pentru descrierea metabolismului derivaților netestați experimental ai anilinei.

2.Insecticide organofosforice

Ecuația Hansch a fost aplicată la o serie de esteri organofosforici (OP) ai căror substituenți în poziția para a nucleului fenil erau diferiți (fig.5.4.) [7].

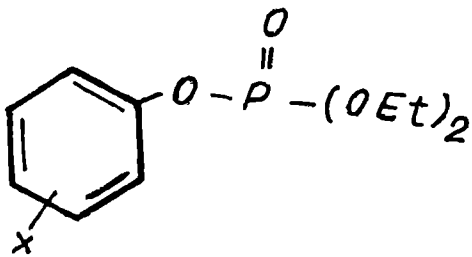


Fig.5.4. *Structura generală a esterilor OP luați în considerație în studiul QSAR*

Parametrii examinați au fost: constanta de viteză a reacției de hidroliză, concentrația de ester OP care a produs o inhibare de 50% a acetilcolinesterazei (AChE), CE_{50} si DL_{50}. În tabelul 5.4. sunt date ecuațiile obținute având cei mai mari coeficienți de corelație.

Tabel 5.4. *Ecuațiile QSAR cu cei mai mari r, obținute în cazul esterilor OP*

log RB	n	r	Nr.ecuației
$\log K_{hidr} = 1{,}96\sigma^- - 6{,}62$	4	0.969	5.52
$\log 1/CE_{50}(AChE) = 2{,}49\sigma^- + 4{,}18$	8	0.985	5.53
$\log 1/DL_{50} = 0{,}26\pi + 2{,}42\sigma^- - 0{,}60$	8	0.987	5.54

Efectele σ se explică prin aceea că substituenții pe nucleul fenil influențează sarcina pozitivă a atomului de fosfor şi, în consecință, afinitatea pentru grupele

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

OH din apă si serină. În cazul corelației cu valorile DL_{50} un rol important îl are termenul de hidrofobicitate, π, fapt explicat prin aceea că letalitatea, spre deosebire de procesul de hidroliză, implică si fenomene de transport.

3. *Predicția CL_{50} minim pentru compuși organici*

Valorile CL_{50} experimental la peşti şi CL_{50} minim calculat pentru o serie de compuşi sunt date în tabelul 5.5 [7]. Primii doi compuşi au o acțiune nespecifică de tip fizic, iar valorile CL_{50} minim au fost calculate utilizând o relație liniara între RB (în acest caz CL_{50}) şi logaritmul constantelor de repartiție de tipul:

$$\log 1 / CL_{50} = 0{,}871 \log P - 4{,}87 \qquad (5.55)$$

(r = 0,987)

Aceasta ecuație nu este aplicabilă la ceilalți compuşi din tabel (s-au obținut diferențe semnificative între cei doi parametri) datorită acțiunii lor specifice, chimice. Astfel, clasificarea corectă a substanțelor, în funcție de tipul lor de acțiune, reprezintă o problemă esențiala în studiile de predicție a toxicității.

Tabel 5.5. *Valorile CL_{50} experimental şi CL_{50} minim calculat, in cazul unor compusi organici*

Compus	log P	CL_{50} minim μ mol.l^{-1}	CL_{50} (experimental) μ mol.l^{-1}
Metanol	- 0.79	$3.6 \cdot 10^5$	$3.6 \cdot 10^5$
3-Clortoluen	3.31	97	145
Dieldrin	5.30	1.8	0.017
Malation	2.82	257	4.0
Lindan	3.53	63	0.20
1,3 – Dinitrobenzen	1.53	3467	56
3,5 – Dicloranilina	2.42	578	24
α - Clortoluen	2.46	513	3.1

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

O explicație a folosirii unor relații liniare între activitatea biologică si logaritmul coeficienților de repartiție în cazul interacției nespecifice, ar putea fi că, legatura substanță–receptor nu se stabileşte într-un loc bine determinat pe receptor, forțele de legătura fiind de natură hidrofobă. În acest caz, reacția determinantă de viteză are loc pe sau în peretele celular, adică nu este necesară decât o singură repartiție din faza hidrofilă în faza lipofilă (faza celulară este lipofilă). Într-o astfel de relație liniară, care se poate scrie sub forma generală:

$$\log \frac{1}{C} = k_2 \pi + k_5 \qquad (5.56)$$

k_2 arată cât de sensibil este testul biologic la variația caracterului hidrofob al membrilor seriei studiate; k_5 depinde de raportul dintre centrii activi de pe receptor si numărul de molecule de substrat (poluant) aflate în poziții favorabile să interacționeze cu acești centri.

Un numar foarte mare de ecuații (v.5.56) se pot aplica in procesele de hidroliza, fapt ce confirmă dependența liniară între activitatea biologică si caracterul hidrofob al substanțelor în cazul proceselor care se desfăşoară în membrana celulară.

4. Toxicitatea fenolilor

Hansch şi colab. au studiat inhibiția malat-dehidrogenezei de către fenoli. S-a obținut un coeficient de corelație bun, atunci când s-au omis din serie derivații meta-substituiți, obținându-se o dependență parabolică fața de constantele σ si π:

$$- \log I = 0{,}73\sigma^2 - 0{,}77\,\pi^2 - 0{,}65\,\sigma + 2{,}44\,\pi + 3{,}47 \qquad (5.57)$$

$r = 0{,}952$

În multe cazuri, parametrii fizico–chimici utilizați în ecuația generală a lui Hansch nu reflectă satisfăcător modul de interacție substanță–receptor. De aceea s-au încercat diverse modificații ale ecuației Hansch constând din dependențe liniare sau pătratice de constanta π şi/sau σ simultan cu dependențe de diferite

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

mărimi fizico-chimice ca de exemplu constanta Taft, momentul de dipol, energia primului orbital molecular liber [201, 202]. Utilizarea momentului de dipol în ecuațiile de regresie arată că între molecula organică și receptor se stabilesc legături intermoleculare de tipul dipol-sarcină de pe receptor. Un exemplu de substanțe în cazul cărora s-a utilizat momentul de dipol pentru a descrie relația structură-activitate biologică îl constituie derivații de tip amidic cu acțiune asupra sistemului nervos central.

O ecuație unică pentru a descrie toxicitatea tuturor grupelor de substanțe nu există înca. Totuși, ecuația Hansch a fost și continuă să fie aplicată la diverse efecte si substanțe, deoarece poate furniza indicații despre mecanismul de acțiune.

5.2. METODA FREE – WILSON

Spre deosebire de analiza Hansch, metoda Free – Wilson nu se bazează pe proprietațile fizico-chimice, ci ia în considerare numai *structura* compușilor. Ideea care stă la baza acestei metode este că efectul unui sustituent asupra activitații biologice este aditiv și independent de prezența altor substituenți. Cu alte cuvinte, activitatea biologică a unei substanțe se exprimă aditiv în funcție de activitățile "de grup" ale substituenților grefați. Metoda Free – Wilson se bazează pe următoarea ecuație generală:

$$RB = \sum\left(A_{ij}S_{ij}\right) + k \qquad (5.58)$$

unde: RB = răspunsul biologic

A_{ij} = contribuția la RB a unui substituent i aflat in pozitia j

S_{ij} = indică dacă substituentul i este prezent în poziția j (S=1) sau nu (S=0)

Pentru aplicarea metodei Wilson, datele biologice trebuie să indeplinească urmatoarele conditii:

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- compuşii studiaţi trebuie să fie suficient de asemănatori d.p.d.v. al structurii pentru a se putea presupune un mecanism constant de acţiune;

- datele privind activitatea biologică trebuie sa fie cantitative, precise si măsurate în condiţii uniforme pentru toţi compuşii seriei studiate;

- contribuţiile de grup ale parametrului ales trebuie sa fie aditive

De asemenea, este necesar sa se utilizeze un numar cât mai mare de date pentru ca rezultatul metodelor statistice să fie semnificativ.

S-a încercat o combinare a metodelor Free-Wilson şi Hansch în studiile de predicţie a valorilor DL_{50} la şobolan [7]. Pentru calculul valorilor DL_{50} în cazul a 425 compuşi s-a utilizat urmatoarea ecuaţie QSAR:

$$\log 1/DL_{50} = a \log P + b M + C_1X_1(i) + C_2X_2(i) + \ldots + C_{27}X_{27}(i) + d \qquad (5.59)$$

unde: P = coeficientul de repartiţie octanol – apă

M = masa moleculară

$X_1, X_2, \ldots, X_{27}$ = factori corespunzand caracteristicilor structurale particulare

X = 1 sau 0 dacă un anumit fragment structural este prezent sau nu într-un anumit compus.

Exemple ale acestor fragmente structurale includ grupele nitro şi carbonil. Această ecuaţie a fost rezolvată prin analiza de regresie liniară multiplă, calculându-se coeficienţii a, b, $C_1 - C_{27}$ si d; coeficientul de corelaţie obţinut a fost 0,702.

Această abordare a fost criticată datorită faptului că un număr mare de compuşi, având diferite structuri si mecanisme de acţiune, au fost incluşi într-o singură ecuaţie. Această metodă nu este utilizată frecvent în practică pentru predicţia valorilor DL_{50}.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

5.3. METODA DE CORELARE STRUCTURĂ – EFECT

Metoda de corelare structura – efect (pattern recognition method) se utilizează, asa cum s-a amintit la începutul capitolului, pentru stabilirea relaţiilor calitative între un set de "descriptori moleculari" ai structurii unui compus şi prezenţa sau absenţa unui anumit efect biologic. Fiecare moleculă este caracterizată de un număr N de descriptori posibili care conduce la un set de date pentru un număr de compuşi n. Analiza statistică decide care din aceşti descriptori moleculari determină prezenţa sau absenţa efectului. Această metodă a fost aplicată la date privind carcinogenitatea aminelor şi a hidrocarburilor aromatice policiclice.

5.4. CALCULUL INDICILOR DE REACTIVITATE

5.4.1. Metode de calcul a indicilor de reactivitate

Rezultatele metodelor de calcul ale chimiei cuantice conduc la obţinerea energiilor electronilor din moleculă şi a funcţiilor lor de undă. Cunoscând valorile acestor mărimi se obţin informaţii asupra potenţialelor de ionizare, afinitaţi pentru electron, spectrelor electronice si reactivitaţii chimice.

Principalele metode de calcul folosite vor fi sumarizate în cele ce urmează.

a. ***Metoda Hückel***

Aceasta metodă este larg utilizata pentru studiul sistemelor conjugate. Metoda introduce în calcul numai electronii π ai unui sistem molecular. De asemenea, este neglijată repulsia dintre electroni, folosindu-se un hamiltonian monoelectronic efectiv nedefinit ca formă. În cazul în care în moleculă există heteroatomi (X), aceştia sunt caracterizaţi de doi parametrii: parametrul *coulombian*, h_x, care este corelat cu diferenţa de electronegativitate între atomul X

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

si atomul de carbon si parametrul de *rezonanță* k_{CX}. Parametrul k_{CX} s-a încercat a se corela cu energiile de legatură conform relației:

$$k_{CX} = \frac{E_{C=X} - E_{C-X}}{E_{C=C} - E_{C-C}} \tag{5.60}$$

dar această relație a condus la rezultate nesatisfacatoare, datorită incertitudinii în valorile energiilor de legatură. S-a încercat, de asemenea, să se obțină valorile k_{CX} pe baza dependeței între integrala de rezonanță, β_{C-X} , si distanța dintre atomi:

$$\beta_{C-X} = f(r_{C-X}) \tag{5.61}$$

precum şi pe baza proportionalității dintre integralele de rezonanță şi integralele de acoperire [203]:

$$\frac{\beta_{C-X}}{\beta_{C-C}} = \frac{S_{C-X}}{S_{C-C}} \tag{5.62}$$

unde: S_{C-X} = integrala de acoperire dintre orbitalele π ale atomilor C si X.

S_{C-C} = integrala de acoperire dintre orbitalele π a doi atomi de carbon

Valorile parametrilor h_X si k_{CX} se aleg astfel încât rezultatele calculate să fie cât mai apropiate de cele experimentale.

b. Metoda SCF – Pariser – Parr – Pople (SCF – PPP)

Metoda semiempirică SCF – PPP introduce în calcul repulsia dintre electroni. Această metodă a fost elaborată de Roothaan, apoi Pople, Pariser, si Parr au introdus o serie de aproximații pentru a evalua diferitele elemente ale operatorului de energie din date experimentale [203]. Pentru a efectua calcule utilizând această metodă sunt necesare diverse mărimi ca de ex. potențialele de ionizare (I_X), afinitățile pentru electron (A_x), integralele de repulsie mono- si bicentrice (γ_{XX}, γ_{CX}), integralele de rezonanță între atomii vecini (β_{CX}).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

c. Metoda Del Re

Aşa cum s-a amintit, metodele Hückel si SCF – PPP iau în considerare numai electronii π. Utilizarea metodelor CNDO, MINDO, INDO etc. pentru a evalua contribuţia electronilor σ si π nu este adecvată în cazul sistemelor biologice, dată fiind complexitatea acestora. De aceea, contribuţia electronilor σ trebuie considerată cu ajutorul metodei Del Re [203].

În cadrul acestei metode, se dau formule aproximative pentru calculul deplasarilor de sarcină între doi atomi si al energiilor de legatură. Sarcina efectivă se calculează, în fracţiuni de sarcini electronice, ca fiind suma sarcinilor de legatură la atomul respectiv. Parametrii folosiţi în calcul depind de diferenţa între electronegativitatea standard a atomului considerat şi electronegativitatea standard a hidrogenului, de tăria legăturii σ considerate şi de efectele inductive ale atomilor.

5.4.2. Indici de reactivitate

Discutarea reactivitaţii chimice se bazează pe admiterea a două aproximaţii pentru starea de tranziţie si anume o aproximatie statică şi o aproximaţie dinamică. Compararea reactivitaţii diferitelor poziţii ale unei molecule faţă de un reactant se realizează utilizând indicii de reactivitate.

5.4.2.1. Aproximaţia statică (modelul moleculelor izolate)

În această aproximaţie se consideră reactivitatea chimică a moleculei funcţie de structura ei electronică şi neinfluenţată de interacţia cu alt reactant (starea de tranziţie este similară cu aceea a substratului). Acest model, denumit *static*, este adecvat cazurilor când starea de tranziţie se atinge foarte repede (substratul se transformă rapid).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Indicii statici de reactivitate calculați cu ajutorul funcțiilor de undă şi ale energiilor reactantului sunt următorii [203]:

- *densitatea de electroni π (q_μ)*, este definită de relația:

$$q_\mu = \sum_{i=1}^{N} c_{i\mu}^2 \cdot n(i) \qquad (5.63)$$

unde: $c_{i\mu}$ = coeficientul orbitalei atomului μ în orbitalul molecular i

n(i) = numarul electronilor π in orbitalul molecular i

Acest indice este utilizat mai ales pentru moleculele cu heteroatomi, în care, datorită efectelor inductive si mezomere ale acestora pot exista diferențieri ale distribuției sarcinii în moleculă si deci diferențieri privind reactivitatea diferitelor poziții.

- *sarcina netă de electroni* π (Δq_μ) dată de relația:

$$\Delta q_\mu = Z_\mu - q_\mu \qquad (5.64)$$

unde Z_μ = numărul de electroni π introduşi în conjugare de atomul μ

q_μ = densitatea de electroni π a atomului μ

Un atac electrofil este favorizat în pozițiile care au sarcina netă de electroni π mai mare.

- *sarcina efectivă σ (ρ_μ^σ):*

$$\rho_\mu^\sigma = \sum_\upsilon Q_{\upsilon\mu} \qquad (5.65)$$

unde $Q_{\upsilon\mu} = (\delta_\upsilon - \delta_\mu)/2\eta_{\upsilon\mu}$ (5.66)

$\delta_\upsilon, \delta_\mu$ = electronegativitățile orbitalelor υ, respectiv μ

$\eta_{\upsilon\mu}$ = parametru corelat cu tăria legăturii σ

- *sarcina totală (ρ):*

$$\rho = \rho_\mu^\sigma + q_\mu \qquad (5.67)$$

- *ordinul de dublă legatură* $\pi(P_{\mu\upsilon})$ este definit prin relația:

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

$$P_{\mu\upsilon} = \sum_i n(i) \cdot c_{i\mu} \cdot c_{i\upsilon} \qquad (5.68)$$

în care: $c_{i\mu}, c_{i\upsilon}$ = coeficienţii orbitalelor atomice μ si υ în orbitala moleculară

(OM)i

n (i) = numărul de electroni din această orbitală i; n(i) = 2 pentru OM dublu ocupate; n(i) = 1 pentru OM monoocupate; n(i) = 0 pentru OM libere

Acest indice arată gradul de delocalizare al electronilor π în lungul legăturii μυ. Ordinul de legătura dublă dă informaţii asupra reactivităţii moleculei în cazul în care este implicată dubla legatură.

- *indicele de valenţă liberă (I_μ):*

$$I_\mu = \sqrt{3} - \sum_\upsilon P_{\mu\upsilon} \qquad (5.69)$$

Indicele de valenţă liberă caracterizează reactivitatea moleculelor în reacţiile de tip radicalic si arată capacitatea unui atom implicat in legături delocalizate de a mai reacţiona.

- *autopolarizabilitatea atom atom ($\pi_{\mu\mu}$):*

$$\pi_{\mu\mu} = 4 \sum_{i=1}^{N/2} \cdot \sum_{j=N/2+1} \frac{c_{i\mu}^2 \cdot c_{j\mu}^2}{\varepsilon_i - \varepsilon_j} \qquad (5.70)$$

unde $\varepsilon_i, \varepsilon_j$ = energiile orbitalelor moleculare i si j.

Acest indice furnizează informaţii privind capacitatea diferiţilor atomi dintr-o moleculă de a se polariza sub acţiunea unui câmp exterior.

5.4.2.2. Aproximaţia dinamică

În acest model se consideră că molecula interacţionează cu reactantul, formând un complex activat cu acesta, a cărui stare diferă de aceea a reactanţilor. Se consideră că se formeaza un complex σ (numit complex Wheland) în care se stabileste o legătura σ între atomul de carbon la care are loc substituţia (şi care

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

face parte dintr-un ciclu aromatic) şi reactantul nucleofil sau electrofil. Ca urmare a apariţiei legăturii σ, acest atom de carbon este scos din conjugare, iar structura stării de tranziţie are (n-2) electroni delocalizaţi pe (n-1) centri în cazul substituţiei electrofile sau (n+2) electroni dispuşi, pe (n-1) centri în cazul substituţiei nucleofile.

S-au definit următorii indici dinamici de reactivitate:

- *energia de localizare* (L_μ) este definită de relaţia:

$$L_\mu = b - b_\mu^+ \qquad (5.71)$$

unde b = energia electronilor π în molecula considerată

b_μ^+ = energia electronilor π în complexul activat, considerând că poziţia atacată este μ

În reacţiile de adiţie se definesc energiile de *paralocalizare* şi *ortolocalizare* ca reprezentând diferenţa dintre energia π a moleculei iniţiale şi energiile π ale fragmentelor obţinute prin întreruperea conjugarii datorită adiţiei în poziţia para, respectiv orto.

Cu cât energia de localizare pentru o anumită poziţie are o valoare mai mică, cu atât atacul reactantului va fi mai probabil în acea poziţie.

- *densitatea electronului de frontieră* (F_μ) (se calculează folosind mărimi proprii moleculei izolate) este dată de urmatoarea ecuaţie:

$$F_\mu^E = 2c_{\mu\cdot h\cdot o\cdot m\cdot o}^2 \qquad (5.72)$$

$$F_\mu^N = c_{\mu\cdot l\cdot e\cdot m\cdot o}^2 \qquad (5.73)$$

în care h.o.m.o = ultimul orbital molecular ocupat

l.e.m.o = primul orbital molecular liber

- *superdelocalizabilitatea* (S_μ):

$$S_\mu^E = \sum_i n_i \frac{c_{i\mu}^2}{(-x_i)} \qquad (5.74)$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

$$S_{\mu}^{N} = \sum_{i} (n_i - 2) \frac{c_{i\mu}^2}{(-x_i)} \tag{5.75}$$

$$S_{\mu}^{R} = \sum_{i} (n_i - 1) \frac{c_{i\mu}^2}{(-x_i)} \tag{5.76}$$

Densitatea electronului de frontieră şi superdelocalizabilitatea corespund unei aproximaţii perturbaţionale a energiei de localizare. Conform acestei aproximaţii, cea mai mare contribuţie la energia de localizare o aduce ultimul orbital molecular ocupat în cazul unei substituţii de tip electrofil, sau primul orbital molecular liber în cazul unei substituţii nucleofile.

- *energia de stabilizare la atomul μ (ε_μ) [203]:*

$$\varepsilon_{\mu}^{+} = \sum_{i=1}^{N/2} 2\varepsilon_i c_{i\mu}^2 - c_{\text{hom}\,o,\mu}^2 \varepsilon_{\text{hom}\,o} \tag{5.77}$$

$$\varepsilon_{\mu}^{-} = \sum_{i=1}^{N/2} 2\varepsilon_i c_{i\mu}^2 - c_{lemo,\mu}^2 \varepsilon_{lemo} \tag{5.78}$$

- *indicele Brown pentru reacţia de nitrare (Z_μ) [203]:*

$$Z_{\mu} = 2 + x_i = \frac{2(0.61)^2 c_{i\mu}^2}{2 + x_i} \tag{5.79}$$

În cazul când indicele Brown se utilizează pentru alte relaţii de substituţie electrofilă, trebuie să se înlocuiască coeficienţii 2 si 0,61.

5.5. APLICABILITATEA METODELOR QSAR ÎN TOXICOLOGIE

Una din problemele importante care se ridică este dacă tehnicile QSAR pot fi utilizate în scopuri practice, de ex. pentru luarea unor decizii în cazul substanţelor toxice noi apărute în industrie. În principiu nu este recomandabil ca experimentele pe animale să fie înlocuite prin calcule pentru evaluarea toxicităţii sau pentru estimări calitative (de ex. estimarea potenţialului cancerigen al unei substanţe chimice). Abordarea Hansch precum şi metoda de corelare structură-

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

efect implică unele incertitudini. De aceea nu este indicată utilizarea lor pentru furnizarea de standarde sau pentru obținerea de informații în scopul luării unor decizii (de ex. interzicerea apariției unor substanțe noi pe piață). În acest sens, în Europa, se insistă, în cazul apariției de substanțe noi în industrie, pe studii de toxicitate, prin experimente pe animale. În schimb, în S.U.A. se adoptă un punct de vedere diferit. Agenția Americană de Protecție a Mediului (EPA) utilizează datele QSAR în politica sa privind acceptarea în uz a noilor substanțe chimice. Pe baza datelor QSAR obținute se iau, ulterior, decizii privind oportunitatea unor studii experimentale suplimentare.

Există un număr de cazuri în care metodele QSAR sunt recomandate si anume:

- în evaluarea toxicității unui număr mare de substanțe existente (aproximativ 60 000) pentru care există date insuficiente. Utilizând relațiile structură chimică-activitatea biologică este posibilă o alegere prioritară, în vederea testării în experimente pe animale, a acelor substanțe care prezintă o toxicitate crescută.

- în determinarea domeniului concentrațiilor care include CL_{50}, înainte de efectuarea unui experiment CL_{50}

- predicția toxicității substanțelor nesintetizate încă în scopul luării deciziilor privind oportunitatea sintezei acestora. De ex. rezultatele unui studiu QSAR care prevede potențialul cancerigen sau de bioconcentrare in organismele acvatice al unui compus, reprezintă un argument serios pentru a se renunța la sinteza compusului respectiv.

- o serie de parametri obtinuți în studiile QSAR furnizează informații asupra mecanismului de acțiune al substanțelor în mediul biologic.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

5.6. EXERCIŢII ŞI PROBLEME

1. Pentru compusul N butil – anilină, care suferă reacţii de hidroxilare în poziţia para cu gruparea N – butil în microzomi din ficat, plămâni şi rinichi s-a determinat experimental log RB = 2.31. Se dau: log P = 3.16, E_S = 1.24.

   Să se obţină răspunsul biologic calculat pe baza ecuaţiei (5.49):

   log RB = 0.27 log P + 0.36E_S + 1.03.

   Să se calculeze deviaţia standard şi eroarea relativă procentuală.

   R. log RB_{calc} = 2.33

2. Compusul 3 – metilanilină suferă în microzomii din ficat, plămâni şi rinichi reacţia de hidroxilare în poziţia para cu gruparea – NH_2 pentru care răspunsul biologic determinat experimental este log Rb = 1.50. Să se extragă din tabelul 5.2 valorile corespunzătoare hidrofobicităţii (log P), constantei de substituent (σ) şi ale lui E_S, iar pe baza ecuaţiei (5.51):

   $$\log RB = 0.27 \log P - 0.106\,\sigma + 0.34\,E_S + 1.06$$

   să se calculeze log RB, apoi deviaţia standard şi eroarea relativă procentuală.

   R. log RB_{calc} = 1.41

3. Compusul 3 - nitroanilina suferă reacţia de hidroxilare în poziţia para cu gruparea – NH_2 în microzomii din ficat, plămâni şi rinichi fiind caracterizat de valoarea logRB_{exp} = 0.88. Se dau: log P = 1.37, σ = 0.71, E_S = -1.28. Să se obţină răspunsul biologic calculat pe baza ecuaţiei (5.51):

   $$\log RB = 0.27 \log P - 0.106\,\sigma + 0.34\,E_S + 1.06$$

   Să se calculeze deviaţia standard ţi eroarea relativă procentuală.

   R. log RB_{calc} = 0.94

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

4. Pentru metanol valoarea CL_{50} determinată experimental la peşti este $3.6\ 10^3$ μmol l^{-1} iar constanta de partitie octanol / apă are valoarea log P = -0.79 (v. tab. 5.5). Să se calculeze CL_{50} minim după ecuaţia liniară (5.55) care determină RB (în acest caz = 1/ CL_{50}) pentru compuşi organici toxici nespecifici:

$$\log 1/CL_{50} = 0.871 \log P - 4.87 \text{ cu coeficient de corelaţie } r = 0.987$$

R. $CL_{50} = 3.615\ 10^3$ μmol l^{-1}

5. Pentru 3 clortoluen valoarea CL_{50} minim (determinată experimental la peşti) este 145 μmol l^{-1}, iar constanta de partiţie octanol /apă este 3.31. Să se calculeze CL_{50min} după ecuaţia liniară (5.55) care determină RB (în acest caz 1/ CL_{50}) pentru compuşi organici toxici nespecifici:

$$\log 1/CL_{50} = 0.871 \log P - 4.87 \text{ cu } r = 0.987.$$

R. $CL_{50} = 89.3$ μmol l^{-1}

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

6. DETERMINAREA ENTROPIEI ŞI INFORMAŢIEI ECOLOGICE

6.1. GENERALITĂŢI

În orice ecosistem raportul dintre mulţimea speciilor şi mulţimea indivizilor lor este o rezultantă a interacţiunii multiple dintre specii şi acestea şi mediul fizic.

Pe parcursul dezvoltării biocenozei, aceste interacţiuni tind spre instaurarea unei stări de echilibru, care nu este static, ci mobil, concretizat printr-un flux şi un reflux constant al numărului de indivizi pe specii.

Spectrul abundenţei relative a speciilor existente la un moment dat într-o biocenoză este o reflectare a acestor interacţiuni. Expresia cantitativă a acestui spectru se exprimă prin *indici de diversitate.*

Diversitatea specifică oglindeşte raportul dintre numărul total de specii şi numărul total de indivizi dintr-o biocenoză dată, fiind numită şi *diversitate ecologică.*

Cunoaşterea diversităţii ecologice este de mare utilitate practică în etapa actuală a cercetărilor ecologice, permiţând estimarea *gradului de stabilitate* a biocenozelor.

Indicele de diversitate specifică reprezintă o măsură a gradului de stabilitate structurală a unei biocenoze date.

O biocenoză stabilizată se caracterizează printr-un indice de diversitate ridicat. Aceasta presupune condiţii ecologice echilibrate. Dacă un factor ecologic devine preponderent, echilibrul se rupe, căci din numeroasele specii, vor profita doar câteva, care sunt mai bine adaptate la factorul în cauză, dezvoltându-se în dauna celorlalte, care-şi vor reduce indivizii sau vor dispărea. Deci, într-o biocenoză devenită instabilă, indicele de diversitate va scădea.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Diversitatea specifică se poate estima în baza probelor extrase din ecosistem şi prin calcularea indicelui de diversitate.

În estimarea diversităţii s-a apelat la teorii a informaţiei, aplicându-se *Funcţia Shannon.*

Funcţia Shannon se bazează pe probabilităţile de întâmplare a evenimentelor legate în lanţ, având expresia

$$H = -\sum p_i \log_2 p_i \qquad (6.1)$$

unde: i - evenimentul

p_i – probabilitate de întâmplare

Această funcţie descrie media gradului de incertitudine în prezicerea speciei următorului individ care ar fi colectat.

Aplicând această funcţie la calculul diversităţii, ea va deveni:

$$H_{(S)} = -\sum_{i=1}^{S} p_i \log_2 p_i \qquad (6.2)$$

unde: H_S – indicele de diversitate (conţinutul informaţional al eşantioanelor)

S – numărul de specii

P – abundenţa relativă (dominanţa) speciei

Produsul $p_i \log_2 p_i$ este, în acelaşi timp, măsura incertitudinii fiecărui eveniment, asociat cu câmpul finit de probabilităţi, respectiv entropia câmpului (grad de dezordine, schimbare de poziţie).

Inversul entropiei este *informaţia.* Ea se exprimă prin aceeaşi relaţie, dar cu semnul schimbat. Când entropia este mare, informaţia este mică şi invers. O informaţie de valoare mare corespunde unei diversităţi mari, deci funcţia Shannon în calcularea diversităţii măsoară informaţia.

Reluând problema diversităţii Lloyd şi Ghelardi [208], plecând de la constatarea conform căreia biocenoza cu acelaşi număr de specii pot prezenta indicii de diversitate diferiţi, dacă modul de repartizare al indivizilor pe specii nu coincide. Ei au considerat că diversitatea este condiţionată de doi factori cu

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

valoare egală: numărul de specii şi echitabilitatea (distribuţia numărului de indivizi pe specii).

Autorii aduc unele corecţii pentru calcularea indicatorului H, propunând formula:

$$H_S = \frac{K}{N}\left(N \log_{10} N - \sum_{n=0}^{S} N_r \log_{10} N_x \right) \qquad (6.3)$$

unde: $H_{(S)}$ – diversitatea reală (abundenţa)

K – factor de conversie (3,321928) necesar pentru transformarea logaritmului zecimal în logaritm cu baza 2 (natural)

N – numărul total de indivizi

S – numărul total de specii

N_r – numărul de indivizi găsiţi pentru specia r (ambundenţa)

Această relaţie evită deci, calcularea probabilităţilor p_i pe care se bazează funcţia Shannon, deoarece se fundamentează pe abundenţele sub care au fost găsite speciile.

Conceptul diversităţii include următoarele noţiuni

- diversitatea reală
- diversitatea ipotetică (maximală)
- diversitatea relativă sau *echitabilitatea.*

Diversitatea reală $H_{(S)}$, calculată cu relaţia (6.3), creşte cu numărul de indivizi, pentru acelaşi număr de specii.

Diversitatea ipotetică $H_{(S)}$, a unei biocenoze se atinge atunci când toate speciile prezente ar avea acelaşi număr de indivizi şi se calculează din relaţia

$$H_{(S)_{max}} = k \log_{10} S \qquad (6.4)$$

Diversitatea relativă H_r sau echitabilitatea reprezintă raportul dintre diversitatea reală $H_{(S)}$ şi diversitatea maximală $H_{(S)max}$.

$$H_x = \frac{H_{(S)}}{H_{(S)_{max}}} \qquad (6.5)$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Valoarea indicatorului H_x arată în ce măsură diversitatea observată se îndepărtează de cea ipotetică, maximală, şi reprezintă o măsură a gradului de echilibru al unei comunităţi.

Lloyd şi Ghelardi [208] au propus o altă cale de calculare a echitabilităţii ce constă în compararea diversităţii observate $H_{(S)}$ cu diversitatea teoretică $M_{(S)}$, care se consideră a fi mai apropiată de situaţia reală din natură, fiind calculată pentru acelaşi număr de specii observate în ipoteza egalităţii numărului de indivizi.

În Anexa sunt date valorile diversităţii teoretice $M_{(S')}$, corespunzătoare diferitelor valori numerice ale speciilor S', calculate de Lloyd şi Ghelardi. Este de observat că în cazul în care în nomograma Lloyd şi Ghelardi nu se găseşte corespondentul exact al valorii H_S calculate este indicat a se folosi acel număr întreg S' pentru care M(S) este mai apropiat de H_S.

Cunoscând diversitatea reală $H_{(S)}$, se propune calcularea echitabilităţii E, făcând raportul dintre numărul teoretic de specii S' (care corespund la acea valoare a diversităţii teoretice $M_{(S')} = S'$) şi numărul observat de specii S.

$$E = \frac{S'_{teor}}{S_{pr}} \qquad (6.6)$$

Valoarea echiatabilităţii se apropie de zero când speciile au divergenţă maximă între ele şi este egală cu 1, când toate speciile au frecvenţe egale.

Principalul factor care reglează diversitatea şi echitabilitatea ecologică este stabilitatea mediului de viaţă din ecosistem.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

6.2 *CALCULUL ENTROPIEI, INFORMAȚIEI ȘI ECHITABILITĂȚII ECOLOGICE PRIVIND BIOCENOZA SUBSPECIILOR CARABOIDEA ÎNAINTE ȘI DUPĂ ADMINISTRAREA DE PESTICIDE - lucrare practică*

Scopul lucrării

Lucrarea urmărește calcularea entropiei, informației, diversității și echitabilității ecologice cu scopul de a preciza influența condițiilor de mediu asupra biocenozei subspeciilor *Caraboidea*, înainte și după administrarea de pesticide.

Mod de lucru

Folosind datele experimentale din [208] date în tabelul 6.1, relațiile (6.1-6.6) și nomograma Lloyd Ghelardi din Anexa calculați entropia, informația, diversitatea și echitabilitatea precizând influența condițiilor de mediu asupra biocenozei subspeciilor Caraboidea, înainte și după administrarea de pesticide.

Tabelul 1. *Diversitatea teoretică $M_{(S')}$ corespunzătoare diferitelor valori numerice ale speciilor S' (Lloyd și Ghelardi)*

S'	M (S')	S'	M (S')	S'	M (S')	S'	M (S')	S'	M (S')
1	0.0000	41	4.7861	81	5.7506	142	6.5521	255	7.3915
2	0.1814	42	4.8200	82	5.7681	144	6.5721	260	7.4194
3	1.2997	43	4.8532	83	5.7853	146	6.5919	265	7.4468
4	1.6556	44	4.8856	84	5.8024	148	6.6114	270	7.4736
5	1.8170	45	4.9173	85	5.8192	150	6.6306	275	7.5000
6	2.1713	46	4.9483	86	5.8359	152	6.6495	280	7.5259
7	2.3714	47	4.9787	87	5.8524	154	6.6683	285	7.5513
8	2.5465	48	5.0084	88	5.8687	156	6.6867	290	7.5763
9	2.7022	49	5.0375	89	5.8848	158	6.7050	295	7.6008
10	2.8425	50	5.0661	90	5.9007	160	6.7230	300	7.6250
11	2.9701	51	5.9164	91	5.9164	162	6.7408	310	7.6721

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

12	3.0872	52	5.1215	92	5.9320	164	6.7584	320	7.7174
13	3.1954	53	5.1485	93	5.9474	166	6.7757	330	7.7620
15	3.3899	55	5.2009	95	5.9778	170	6.8099	350	7.8465
16	3.4780	56	5.2264	96	5.9927	172	6.8266	360	7.8870
17	3.5611	57	5.2515	97	6.0075	174	6.8432	370	7.9264
18	3.6395	58	5.2761	98	6.0221	176	6.8596	380	7.9648
19	3.7139	59	5.3004	99	6.0366	178	6.8758	390	8.0022
20	3.7846	60	5.3242	100	6.0510	180	6.8918	400	8.0386
21	3.8520	61	5.3476	102	6.0792	182	6.9076	410	8.0741
22	3.8520	62	5.3707	104	6.1064	184	6.9293	420	8.1087
23	3.9779	63	5.3934	106	6.1341	186	6.9288	430	8.1426
24	4.0369	64	5.4157	108	6.1668	188	6.9541	440	8.1757
25	4.0937	65	5.4378	110	6.1870	190	6.9693	450	8.2080
26	4.1482	66	5.4594	112	6.2128	192	6.9843	460	8.2396
27	4.2008	67	5.4808	114	6.2380	194	6.9992	470	8.2706
28	4.2515	68	5.5018	116	6.2629	196	7.0139	480	8.3009
29	4.3004	69	5.2260	118	6.2873	198	7.0284	490	8.3305
30	4.3478	70	5.5430	120	6.3118	200	7.0429	500	8.3596
31	4.3936	71	5.5632	122	6.3350	205	7.0788	550	8.4968
32	4.4381	72	5.5830	124	6.3582	210	7.1128	600	8.6220
33	4.4832	73	5.6027	126	6.3811	215	7.1466	650	8.7373
34	4.5230	74	5.6220	128	6.4036	220	7.1796	700	8.8440
35	4.5637	75	5.6411	130	6.4258	225	7.2118	750	8.9434
36	4.6032	76	5.6599	132	6.4176	230	7.2434	800	9.0343
37	4.6417	77	5.6785	134	6.4691	235	7.2743	850	9.1236
38	4.6792	78	5.6969	136	6.4903	240	7.3045	900	9.2060
39	4.7157	79	5.7150	138	6.5112	245	7.3341	950	9.2839
40		80	5.7329	140	6.5318	250	7.3631	1000	9.3578

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

6.3. STUDIUL ACȚIUNII TOXICE A CUPRULUI ASUPRA FAUNEI ACVATICE - *lucrare practică*

Generalități

Analiza toxicității manifestată de anumite noxe prezente în mediul acvatic impune sublinierea unor aspecte printre care: acțiunea toxică asupra omului și a animalelor cu sânge cald, asupra plantelor si insectelor, asupra verigilor inferioare ale lanțului trofic (bacterii, microalge) si toxicitatea la nivel de ecosistem în general. Cu alte cuvinte , toxicitatea unora sau a altor factori ce acționează asupra mediului înconjurator trebuie studiată la nivelul organismelor, populațiilor și ecosistemelor [208].

Efectele depind considerabil de unii indici ca: temperatura, conținutul de oxigen, pH, compoziția calitativă și cantitativă în substanțe organice dizolvate (prezența liganzilor în apă, a agenților redox, a antioxidanților etc.).

În plus, substanțele ce ajung în mediul ambiant, în urma unor transformări își pot schimba considerabil proprietățile lor toxicologice.

Microorganismele (reprezentanți inferiori ai lanțului trofic) evoluează menținând mici concentrații de substanțe toxice intraceluale. Această adaptare față de toxice decurge pe două căi. Prima cale, care asigură stabilitatea substanțelor toxice, probabil poartă un caracter ereditar și își are începutul în organismele care au viețuit în condiții extreme ale mediului înconjurator. Se întalnesc populații bacteriene și de alge tolerante stabile la concentrații înalte ale ionilor de metal, care viețuiesc la valori joase ale PH-ului și la temperaturi înalte, condiții care au fost caracteristice pentru Pământ cu miliarde de ani în urmă.

O altă cale e legată de crearea mecanismelor biochimice ce asigură stabilitatea față de factorii toxici (legarea și eliminarea din celulă a ionilor de metal, oxidarea fermentativă sau reducerea toxicilor din interiorul celulei, urmată de transformarea lor în forme mai puțin toxice etc.).

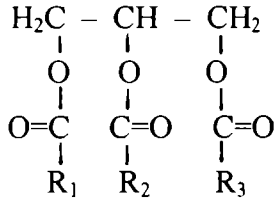
https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Studierea bazelor toxicitatii şi stabilitaţii organismelor animale la acţiunea substanţelor poluante este foarte importanta pentru aprecierea adecvată a urmărilor ecologice posibile ale unor acţiuni antropice. Pentru aceasta e necesar de a studia principiile transformării şi transportului substanţelor poluante in celule vii, care sunt imposibil de înţeles, fără cunoaşterea proceselor fundamentale ale activităţii vitale.

Noţiuni generale despre structura si funcţia celulei

Celula este unitatea de bază a organismului viu, focarul vieţii. Ea este izolată de mediul extern printr-o membrană plasmatică, ce limitează si reglează difuzia ionilor şi moleculelor din mediul extern în cel interior şi invers. Deci, prima barieră în calea toxicului este membrana plasmatică. Membrana plasmatică indeplineşte reglarea transferului substanţelor în celulă şi din ea, asigurarea interacţiunii cu vecinii, conducerea semnalelor electrice in fiberele nervoase si musculare. Membrana plasmatică celulara nu este omogenă. Unele fragmente au suprafaţa netedă, altele formează proeminenţe si cute. Membranele nu separă numai celula de mediul înconjurator, ci creează si arhitectura celulei.

Capacitatea celulei de a face schimb de substanţe cu mediul înconjurator duce la apariţia diferenţei de concentraţie între spaţiul interior şi exterior. Diferenţa concentraţiilor se poate menţine numai cu condiţia ca membrana să posede permeabilitate diferită pentru diferite substanţe. În componenţa membranei intră, în principal, fosfolipidele şi proteinele a căror proporţie variază de la 2,5 : 1 până la 1 : 2,5 depinzând de funcţia membranei. Fosfolipidele sunt esterii glicerinei cu acizii graşi.



https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Fosfolipidele se dizolvă puţin atât în apă cât şi în faza nepolară, deoarece au în componenţa lor atât grupe polare cât si hidrofobe. În mediul acvatic ele se aşează în aşa fel încât grupele hidrofobe nepolare să fie izolate de contactul apa. Proteinele se adsorb la suprafaţa membranei şi formează un strat lipoproteic, uşor permeabil pentru substanţele hidrofobe şi puţin permeabil pentru ioni şi molecule polare. În funcţie de necesitatea cheltuirii energiei la transferul substanţelor prin membrană, procesele pot fi pasive (în prezenţa gradientului de concentraţie sau a potenţialului electrochimic) şi respectiv, active (ce necesită cheltuieli de energie metabolică). Moleculele neutre, solubile în grăsimi, trec prin membrană pe calea difuziei simple prin zonele lipidice ale membranei în direcţia gradientului de concentraţie:

$W_p = \frac{KS\Delta C}{d}$, unde:

S - suprafaţa membranei prin care se înfaptuieşte transportul substanţei P;

D - grosimea membranei

ΔC - gradientul de concentraţie;

K - coeficientul de difuzie ce depinde de coeficientul de repartiţie apă-faza nepolară (solubilitatea P în lipide), de greutatea moleculară a substanţei P şi de structura spaţială a poluantului.

În cazul moleculelor hidrofile de dimensiuni mici (raza < 4 Å) ca de exemplu: apa, peroxid de hidrogen, metanol, uree etc., este posibilă filtarea acestora prin porii (canale) mici ale membranei. Aceste canale apar si dispar datorită caracterului dinamic al stratului lipoproteic.

Pentru unele celule separate schimbul cu mediul exterior se poate înfaptui pe calea cinocitozei şi ecocitozei moleculare – formarea vacuolelor sau a micropicaturilor în lichidul celular. Un proces analog se realizează la fagocitoză.

Un caracter specific îl are transportul activ, care este larg răspândit în natură. În timpul transportului activ, substanţa P se transportă prin membrana cu

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ajutorul fermenților transportori (transferaze) împotriva gradientului de concentrație sau a potențialului electrochimic. Acest proces necesită cheltuieli de energie sub forma de ATP. Astfel substanța P ajunge în interiorul celulei prin unul din canalele enumerate. Aici are loc distribuirea ei între faze în concordanță cu coeficientul de dispersie: apă – faza nepolară. Compușii polari vor fi concentrați, de fapt, în citoplasmă, iar cei nepolari în membranele lipide din interiorul celulei. Unele substanțe pot avea proprietați de liganzi și pot forma compuși complecși cu substanțele endogene și cu ionii metalelor în centrele active ale metalofermentilor. Pe de alta parte – ionii metalelor grele pot forma compuși coordinați cu liganzii celulari (proteinele). Particulele celulare, ce se află în citoplasmă, se numesc organite. În citoplasmă este situat nucleul, care nu întotdeauna este evidențiat morfologic. Nucleul este locul de păstrare și reproducere a materialului ereditar celular și reprezintă o particulă învelită cu o membrană dublă. Membrana nucleară are o mulțime de canale – pori mari (50 nm), prin care, în citoplasmă pot difuza cele mai diferite substanțe, însă materialul cromozomial celular este reținut. Aproape în toate celulele, citoplasma este o masă omogenă, este organizată într-un sistem complicat de membrane, formând, astfel, reticulul endoplasmatic. El este compus dintr-o rețea de "canale", "bule" și "cavități" deosebit de variate din punct de vedere morfologic. Pe reticulul granular (îndeosebi pe cel neted), ca și pe membrana nucleară din partea citoplasmei sunt fixați ribozomii, ce reprezintă "garnulele" ARN, locul unde decurge sinteza proteinelor (fermentilor). O parte a ribozomilor plutește liber în citoplasmă. Proteina sintetizată trece prin membrana reticului endoplasmatic, și prin intermediul canalelor se transportă în anumite locuri din celulă.

La rețeaua endoplasmatică se gaseşte si complexul Golgi – sistem format din membranele netede ale bulelor mici si ale "cavităților" mari. Aici se termină biosinteza proteinei – unirea resturilor hidrocarbonate în lantul proteic, și ambalarea produsului final în granule. Membranele complexului Golgi formează

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

particule celulare denumite lisosomi. Acestea sunt "purificatorii" celulari ce reprezintă "bule", limitate de o membrană si conţin un set întreg de fermenţi hidrolitici pentru descompunerea, practic, a oricărui component celular. În toate organismele aerobe celulele conţin mitocondrii – un fel de "staţii energetice". În ele decurg procesele metabolice de bază, legate de formarea şi acumularea energiei, necesare pentru funcţionarea celulei. Mitocondriile sunt formate din două membrane şi reprezintă o structură complexă a fermenţilor ciclului acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs). Acesta e locul formării ATP. Energia fosforilarii oxidative provine din reacţia de oxidare a substanţelor furnizoare de hidrogen în lanţul respiraţiei: zaharuri, lipide, aminoacizi.

Modalităţi de acţiune toxică a substanţelor poluante

În general, acţiunea substanţelor poluante asupra organismului viu poate fi de trei categorii: citotoxică, teratogenă şi genetică. La baza acţiunii citotoxice stă schimbarea permeabilităţii membranelor celulare, dereglarea proprietăţilor funcţionale ale sistemelor fermentative celulare. Acţiunea teratogenă e legată de dereglarea acţiunii genelor fără a acţiona asupra structurii ereditare a celulei şi a organismului. La baza acţiunii genetice stă schimbarea timpului de mutageneză a organismului. Acest fapt e deosebit de important, în special, la nivelul speciilor populaţiilor care realizează producţia primară (algele inferioare).

Acţiunile toxice primare ale compuşilor străini care pătrund în interiorul celulei, se înfaptuiesc pe câteva căi:

- Dereglarea spaţiului, timpului, regulamentului structural – funcţional al sistemelor fermentative, legate de transportul electronilor, sarcinilor şi a atomilor la distanţe mari;
- Încadrarea concurentă a substanţelor poluante în procesele metabolice (substanţe analoge de substraturi endogene), ce nu conduc la produsele necesare. Un astfel de schimb conduce la ruperea *lanţului metabolic*;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- Interacțiunea chimică a substanțelor poluante cu componenții de o importanță vitală în sistemele celulare.

Ionii metalelor grele sunt dăunători pentru celulele vii. Mecanismul de otravire constă în întreruperea activității multor fermenți. Acumularea excedentară a Cu în organism are acțiune toxică care se manifestă prin: hemoliza masivă, afectarea rinichilor, febră, convulsii, transpirație abundentă, bronșită acută (cu eliminări specifice de culoare verde). Cantitatea maximă necesară de Cu pentru organismul uman este de aproximativ 0,05 mg/kg de masă a corpului.

În Japonia a fost cercetată starea de sănătate a peste 200 de oameni care au locuit pe malul unui râu poluat cu săruri de metale grele. Au fost depistate concentrații înalte de metale în urină și în sânge și, ca urmare a intoxicării, s-a înregistrat tulburarea funcționării rinichilor, afectarea țesutului osos, schimbarea constantelor biochimice ale organismului.

Aprecierea mediului acvatic prin biotestare

Pentru a aprecia și a controla substanțele toxice în organismele prezente în mediul acvatic se abordează fie calea complexă, fie cea diferențială. Calea diferențială a controlului substanțelor toxice include utilizarea criteriilor CMA (concentrație maximă admisibilă) pentru limitarea concentrațiilor substanțelor toxice.

Calea complexă de apreciere se bazează pe aplicarea metodelor de biotestare. Aceste metode sunt frecvent aplicate pentru studiul ecosistemelor acvatice. Metodele de biotestare cu aplicarea organismelor standard de testare sunt utilizate pentru aprecierea toxicității apelor reziduale. Toxicitatea sursei de apa se exprimă cantitativ prin concentrația letală CL-50 (sau nivelul de diluare a a pei reziduale), la care mor 50% din organismele testate. Măsurarea nivelului de toxicitate, un parametru al calității apei reziduale, poate fi aplicat pentru limitarea deversărilor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Parametrul toxicității nu oglindește conținutul unor toxine anume în apă, dar servețte ca o caracteristică integrală a sursei, o masură a acțiunii biologice, fără constatarea cauzelor care au provocat această acțiune.

Parametrul toxicității sursei, analog cu CBO (consumul biologic de oxigen), este un parametru global de apreciere a acțiunii nefavorabile a deversării apelor reziduale cu componență complexă.

Se deosebesc două tipuri de toxicitate: acută si cronică, ce variază în domeniul 10-100 mg în cazul substanțelor conservative în suspensie. Utilizând biotestele, e necesar de a avea în vedere că diferite organisme au sensibilitatea diferită față de aceeași toxină. De aceea, considerând efectul unui amestec de toxine asupra organismelor-test, toxicologii acvatici au formulat o concluzie: dacă proba analizată e toxică pentru organismul testat, atunci proba sigur e toxică. Dacă, însă, toxicitatea nu s-a depistat, atunci ea poate fi potențial toxică.

La transferarea rezultatelor de laborator ale experiențelor toxicologice în condiții naturale este necesar de a fi foarte precauți. Această concluzie se referă, în special, la ionii metalelor grele.

Ionii metalelor grele pot fi împărțiți, convențional, în două grupe: participanți si neparticipanți la metabolismul celular. Prima grupă cuprinde ionii: Hg, Sn, Pb, Ni, Al, Cd, Sr etc., iar cea de a doua: Cu, Zn, Co, Mn, Fe etc.

Deosebirea principală între acești ioni metalici constă în aceea că microelementele de tipul Cu sunt necesare pentru procesele vitale, pe când celelelalte sunt toxice. Microelementele devin toxice la concentrații cu mult mai înalte decât cele necesare. Însă toxicitatea mediului se manifestă și în cazul deficitului unui element. Este esențial faptul că acvaforma ionului metalic este biologic accesibilă și este necesară pentru procesele vitale ale plantelor si organismelor acvatice. Datorită acestei circumstanțe, în dependență de starea de oxidare și prezența liganzilor în apă, concentrația eficientă a microelementului poate fi foarte mică la un conținut total înalt în mediu.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Cuprul, ca şi alte metale grele, se încadrează în categoria toxinelor conservative, ce nu suferă degradari chimice în bazinele cu apă. Cuprul prezent în apă participă la procesul de transport de masă la hotarele apă-atmosferă, apă-suprafată solidă, apă-fază nepolară şi în procesele de formare a complecşilor. Prin reunirea acestor procese fizico-chimice are loc autopurificarea aparentă a mediului acvatic.

În realitate are loc dispersia Cu, poluarea mediilor învecinate, acumularea în depunerile de fund şi în biocenoza acvatică.

Scopul lucrarii

Lucrarea de laborator urmăreşte aplicarea metodei de biotestare pentru aprecierea toxicităţii diferitelor concentraţii ale ionului Cu din apă, asupra peştilor.

Partea experimentală

Dispozitive si materiale necesare:

- Soluţie 0,01 m, $CuSO_4$ (2,5 g $CuSO_4$ $5H_2O$ se dizolvă într-un litru de apă);
- acvarii din sticlă;
- termometre, cilindre gradate, pipete;
- apă liberă de clor.

Modul de analiză

Pentru a studia acţiunea toxică a ionului de cupru asupra peştilor se utilizează şi concentraţia toxică acută care provoacă o mortalitate de 100% a peştilor, în timp de maximum 24 h (DL 100).

În acest sens, în acvariile experimentale se introduc soluţii cu concentraţia de 20, 50, 60,70, 80, 90 şi 100 mg Cu^{2+}/l.

În fiecare acvariu se introduc câte 10 peşti.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Experienţele se realizează la temperatura de 20 ^{0}C, concentraţia de oxigen 5-10 mg/l şi pH de 7,5.

Interpretarea rezultatelor

Datorită efectului toxic al ionului de Cu^{2+}, o parte din peşti vor muri. Observarea comportamentului lor se face la 24 h de la începutul experimentului.

Doza letala (DL_{50}) reprezintă valoarea concentraţiei celei mai mici a ionilor de cupru, pentru care jumatate din indivizii testaţi mor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

7. CALCULUL TOXICITĂȚII ȘI AL LIMITELOR ADMISE ALE POLUANȚILOR INDUSTRIALI DIN DATE FIZICO-CHIMICE

O serie de studii au realizat predicția toxicității substanțelor chimice pe baza unor corelații fie

a) între proprietățile fizico-chimice si indicii de toxicitate, fie

b) între indicii de toxicitate si nivelele permise ale substanțelor în mediu.

Aspectele cantitative ale acestor corelații s-au exprimat prin analiza de regresie[7].

7.1. CORELAȚII ÎNTRE PROPRIETATILE FIZICO-CHIMICE SI INDICII DE TOXICITATE

O serie de ecuații de regresie între CL_{50} și masa moleculară, punctul de fierbere, punctul de topire și densitatea compușilor organici volatili având temperatura de fierbere sub 165^0 C au fost date de Golubev [204]:

$$\log CL_{50}(mM/l) = 0,08 - 0,011M$$
$$\log CL_{50}(mM/l) = 0,02 - 0,009\ t_{fierbere} \quad (7.1)$$
$$\log CL_{50}(mM/l) = 1,6 - 0,010\ t_{topire}$$
$$\log CL_{50}(mM/l) = 0,11 - 0,20\ d$$

unde M = masa moleculara

$t_{fierbere}$ = temperatura de fierbere

t_{topire} = temperatura de topire

d = densitatea

Au fost stabilite, de asemenea, ecuații pentru calculul concentrațiilor maxime admise (CMA) din parametri fizico-chimici [1]:

$$\log CMA(mg/m^3) = 1,12 - 0,58\ G + \log M$$
$$\log CMA(mg/m^3) = 14,2 - 10\ n_D + \log M$$
$$\log CMA(mg/m_3) = -1,2 - 0,012\ t_{topire} + \log M \quad (7.2)$$
$$\log CMA(mg/m^3) = 0,6 - 0,01\ t_{fierbere} + \log M$$
$$\log CMA(mg/m^3) = 1,6 - 2,2\ d + \log M$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

unde: G = tensiunea superficială

n_D = coeficientul de refracţie

Relaţiile (7.2) au fost utilizate pentru compuşi organici cu M = 30 – 300; d = 0,6 – 2,0; $t_{fierbere}$= -100- +300^{0}C; t_{topire} = -190 -+180^{0}C; n_D = 1,3 – 1,6

Relaţii între CMA si coeficientul de repartiţie pentru hidrocarburi clorurate (tetraclorura de carbon si o – diclorbenzenul se exclud) au fost exprimate prin următoarele ecuaţii [205]:

$y = 3,6831 – 0,5293x$ cu

$Z = 0,8788$; $n = 12$; $Sr = 0,7738$ (7.3)

unde Z = coeficientul de corelaţie

n = numărul de probe

x = logaritmul coeficientului de repartiţie

y = logaritmul CMA

Sr = suma reziduală a pătratelor, datorită regresiei liniare

Filov si Ljublina [15, 193] au corelat, pentru *218 substanţe toxice industriale* (hidrocarburi alifatice saturate, cetone saturate, alcooli, eteri alifatici, esteri, hidrobarburi ciclice saturate, hidrocarburi cu legatură triplă, amine alifatice, anilina şi derivaţi, anhidride acide, compuşi ciclici conţinând o grupă NO_2, compuşi conţinând grupa ONO_2 , compuşi cu legatură dublă sau triplă având şi una din următoarele grupe funcţionale: Cl, Br, F, NO_2, OH, substanţe conţinând o grupă epoxi, compuşi organofosforici, aldehide) următorii *3 indici de toxicitate*: CL_{50} după o expunere de 2 ore, şi pentru o perioadă de observaţie de 7 zile, CN_{50} (concentraţia narcotică) după o expunere de 2 ore, C_{lim} (concentraţia limită care a produs modificări convulsive la iepuri după o expunere de 40 minute) cu *37 proprietăţi fizico-chimice* ale acestor toxice. Lista proprietăţilor fizico- chimice utilizate în acest studiu şi a domeniilor corespunzătoare de valori este prezentă în tabelul 7.1 [15].

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tabel 7.1. *Proprietățile fizico- chimice și valorile acestora utilizate în studiul lui Filov și Ljublina*

Nr. Crt	Sim-bol	Denumire	Unități de măsură	Condiții în care au fost măsurate valorile	Domeniu de variație al proprietății considerate
1.	M	Masa moleculară	-	-	28 – 280
2.	ρ	Densitate	g/cm^3	20^0C; comparată cu apa la 40^0C	0.645 – 2.89
3.	V_m	Volum molar	cm^3/mol	-	36.8 – 223.0
4.	n_D	Indice de refracție	-	20^0C	1.283 – 1.685
5.	R_m	Refracție molară	cm^3/mol	-	6,7 – 52,0
6.	t_{topire}	Punct de topire	^0C	-	-190 - + 178
7.	$t_{fierber}$	Punct de fierbere	^0C	760mm Hg	-103 - + 258
8.	p	Presiunea vaporilor saturați	mm Hg	25^0C	$0.15 - 10^5$
9.	p_t	Presiunea vaporilor saturați	mm Hg	la temperatura t_{ech}	429 – 1324
10.	t_{ech}	Temperatura de echilibru	^0C	1 mol de vapori ai substanței într-un volum de 22,414 l si vapori și lichid în echilibru	- 113 - +239
11.	dt/dp_t	Variația temperaturii de fierbere cu presiunea	^0C/mm Hg	25^0C	0.02 – 82
12.	dt/dp_p	Variația temperaturii de fierbere cu presiunea	^0C/mm Hg	10 mm Hg	0.33 – 0.58
13.	ρ_c	Densitate critică	g/cm^3	-	0.230 – 0.776
14.	t_c	Temperatura critică	^0C	-	92 – 611

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Nr. Crt.	Sim-bol	Denumire	Unităţi de măsură	Condiţii în care au fost măsurate valorile	Domeniu de variaţie al proprietăţii considerate
15.	p_c	Presiune critică	atm	-	0.230–0.776
16.	L_f	Caldura latentă de formare	Kcal/mol	-	0.4 – 5.0
17.	L_{vap}	Caldura latentă de vaporizare	Kcal/mol	la temperatura de fierbere	3.2 – 12.0
18.	L_{comb}	Caldura de combustie	Kcal/mol	la presiune const.si 25^0C	63 – 3963
19.	L_{form}	Caldura de formare în stare gazoasă	Kcal/mol	25^0C	- 90 - + 44
20	ΔA_{form}	Energie Helmholz de formare în stare gazoasă	Kcal/mol	-	- 84.0 - + 89.4
21	log k	Logaritmul coeficientului de repartiţie ulei / apă	-	-	-1.5- 55
22	log λ	Logaritmul coeficientului de repartiţie apa/aer	-	-	-1.72 - + 4.7
23.	σ	Tensiunea superficială	dyne/cm	20^0C	12.5 – 51.0
24.	υ	Vâscozitatea cinematică	centi-Stokes	20^0C	0.2 – 108
25.	η	Vâscozitatea dinamică	centi-Poise	20^0C	0.2 – 143
26.	S	Solubilitate	mmol/l	20^0C	0 - ∞
27.	C_p	Căldura specifică	cal/mol^0 K	27^0C si pres.const.	15.6 – 119.6
28.	C_p^v	Căldura specifică de vaporizare	cal/mol^0 K	25^0C	8.5 – 50.6
29.	λ	Conductivitate termică	cal/cms^0 C	lichid	(0.24 – 0.65) x 10^5
30.	P_a	Polarizare atomică	cm^3	-	0.4 – 6.7

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Nr. Crt.	Sim-bol	Denumire	Unităţi de măsură	Condiţii în care au fost măsurate valorile	Domeniu de variaţie al proprietăţii considerate
31.	[P]	Parachor	-	calculat	99 – 402
32.	μ	Moment electric de dipol	Debye	25^0C; soluţie în benzen	$0 - 4.3 \times 10^{-9}$
33.	ε	Constanta dielectrică	-	Mas.la o frecvenţa de 10^5	1.8 – 58.0
34.	V_s	Volum specific	cm^3/g	25^0C	58 – 256
35.	V_i	Potenţial de ionizare	Electron volt	-	7.7 – 12.4
36.	E_l	Entropia lichidului	cal/mol^0 C	25^0C	33.1 – 93.9
37.	S_g	Entropia gazului	cal/mol^0 C	25^0C	52 - 120

Filov a clasificat cele 37 de proprietăţi fizico-chimice menţionate în tabelul 7.1 în următoarele trei clase:

1) proprietăţi determinate de nivelul supermolecular al organizării substanţei: ΔA_{form}, S_g, S_l, $\frac{dt}{dp_i}$, $\frac{dt}{dp_p}$;

2) proprietăţi raportate la nivel molecular:

a^0) proprietăţi raportate la structura moleculară: M, ρ, V, [P];

b^0) proprietăţi raportate la energia cinetică (sau vibraţională a moleculei): p_c, C_p, C^v_p;

c^0) proprietăţi raportate la energia de interacţie moleculară

i) intramoleculară: t_{fierb},

t_{topire}, t_c, t_{ech}, p, p_t, L_{vap}, L_{form};

ii) intermoleculară: L_{comb}, S, log λ, log k;

3) Proprietăţi raportate la nivel nuclear-electronic [15]: n_D, P_a, μ, ε, V_s.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Autorii au constatat că proprietăţile cele mai strâns asociate cu indicii ce exprimă activitatea biologică au fost M, ρ, t_{topire}, $t_{fierbere}$ si n_D şi au calculat CMA utilizând valorile acestor mărimi cu ajutorul următoarelor ecuaţii:

$$\log CMA(mg/m^3) = 0,4 - 0,01M + \log M$$

$$\log CMA(mg/m^3) = 1,6 - 2,2\rho + \log M$$

$$\log CMA(mg/m^3) = 14,2 - 10\, n_D + \log M$$

$$\log CMA(mg/m^3) = 0,6 - 0,01\, t_{fierbere} + \log M \qquad (7.4)$$

$$\log CMA(mg/m^3) = -1,2 - 0,012\, t_{topire} + \log M$$

$$\log CMA(mg/m^3) = 0,48 \log \rho - 1,0 + \log M$$

Se menţionează că proprietaţile fizico-chimice utilizate în calculul CMA trebuie să fie uşor măsurabile, iar corelaţia între aceste proprietăţi şi indicii biologici trebuie să fie puternică pentru compuşii volatili. Aceste condiţii au fost îndeplinite numai pentru t_{topire}, $t_{fierbere}$ şi M. Ecuaţiile pentru calculul CMA, pentru compuşii organici uşor volatili, aparţinând diverselor clase funcţionale, utilizând numai trei proprietăţi fizico-chimice (t_{topire}, $t_{fierbere}$,, M) sunt prezentate în tabelul 7.2. Pentru compuşii greu volatili, autorii au considerat că valorile CMA sunt mai puţin dependente de proprietăţile fizice ale substanţei, comparativ cu compuşii uşor volatili.

7.2. CORELATII INTRE INDICII DE TOXICITATE SI NIVELELE PERMISE ALE SUBSTANTELOR IN MEDIU

Exactitatea prognozei CMA –urilor este mult mai mare dacă se utilizează indicii de toxicitate acută în locul caracteristicilor fizico-chimice.

În acest sens, s-au stabilit următoarele ecuaţii [204, 206]:

- pentru compuşii organici volatili:

$$\log CMA(mM/m^3) = 0,72 \log CL_{50}(mM/l) - 0,31 \qquad (7.5)$$

$$\log CMA(mM/m^3) = 0.88 \log DL_{50}(mM/l) - 2.29$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- pentru pesticide greu volatile şi nevolatile :

$\log CMA(mg/m^3) = 0.008 \log DL_{50}(mg/kg)$ (7.6)

- pentru pesticide organofosforice greu volatile şi nevolatile:

$\log CMA(mg/m^3) = 0.6 \log DL_{50}(mg/kg) - 3.0$ (7.7)

- pentru pesticide clorurate:

$- \log CMA(mg/m^3) = 1.2 \log DL_{50}(mg/kg) - 3.4$ (7.8)

Tabelul 7.2. *Corelaţii între CMA, t_{topire}, $t_{fierbere}$, si M pentru compuşi organici uşor volatili.*

Substanţa	Nr.de perechi	Coef.de corelaţe	Proba-bilitae	Devia ţe medie	Ecuaţie log CMA=
Hidrocarburi	42	- 0.65	<0.001	0.70	0.99 – 0.012 M
	42	- 0.71	<0.001	0.65	0.41-0.006 $t_{fierbere}$
	34	- 0.62	<0.001	0.73	- 0.72-0.007 t_{topire}
Alcooli monohidroxilici saturati	18	- 0.56	<0.02	0.85	1.00-0.015 M
	17	- 0.68	<0.01	0.77	1.41-0.012 $t_{fierbere}$
	10	- 0.66	<0.05	0.77	- 0.47-0.008 t_{topire}
Compusi nitro-fara legaturi nesaturate in lant deschis	25	- 0.72	<0.001	0.71	0.15-0.013 M
	16	- 0.70	<0.001	0.69	- 0.01-0.008 $t_{fierbere}$
	21	- 0.67	<0.001	0.71	-1.67-0.009 t_{topire}
Amine, nitroamine si alti derivati aminici	40	- 0.50	=0.001	0.56	-1.04-0.006 M
	31	- 0.49	<0.01	0.61	-1.18-0.003 $t_{fierbere}$
	27	- 0.52	<0.01	0.58	-1.62-0.004 t_{topire}
Hidrocarburi clorurate	35	- 0.61	<0.001	0.77	0.12-0.11 M
	32	- 0.51	<0.01	0.83	- 0.57-0.007 $t_{fierbere}$
	22	- 0.63	<0.01	0.58	-1.60-0.009 t_{topire}

Dupa unii autori [206, 207] există unele corelaţii între limitele admise ale substanţelor toxice în diferite medii ca de exemplu aerul industrial, aerul ambiental, apa si alimentele. Concentraţia medie admisă (CA) în aerul ambiental,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

pentru compuşii organici cu diferite structuri, poate fi calculată din CMA stabilită în condiţii de mediu industrial, după relaţia :

$$\log CA_{aer\ amb}(mg/m^3) = - 3,9571 + 0,5439\ \ln CMA_{ind}(mg/m^3) \qquad (7.9)$$

cu $r = 0,5793$; $p < 0,001$; $n = 62$

unde r = coeficientul de corelaţie

n = număr de probe

S-a calculat, de asemenea, concentraţia medie admisă a substanţelor toxice în apă (CA_{apa}) din concentraţia medie admisă în condiţii industriale (CA_{ind}) :

$$\ln CA_{ind}\ (mg/m^3) = - 1,9485 + 0,4754\ \ln CA_{apa}\ (mg/l) \qquad (7.10)$$

cu $r = 0,4039$; $p<0,01$; $n = 48$

Nivelul pesticidelor reziduale în alimente s-a calculat utilizând formule simple [206]:

-pentru pesticide organosforice:

$$CA_{p.r.} = 1,45\ CA_{apa} + 0,68 \qquad (7.11)$$

-pentru pesticide clorurate:

$$CA_{p.r.} = 2,22\ CA_{apa} + 0,33 \qquad (7.12)$$

unde $CA_{p.r.}$ = concentraţia admisă de pesticid rezidual (mg/kg)

CA_{apa} = concentraţia admisă a acestui pesticid în apa (mg/l)

7.3 EXERCITII SI PROBLEME

1. Sunt date constantele fizico-chimice ale compuşilor cuprinse în tabelul:

Compus	M	p.t.
α naftochinonă (NQ)	158	125
2,3 diclor 1,4 naftochinonă (NQ – Cl_2)	227	195

şi ecuaţiile: $\log CMA = - 1.2 - 0.012$ p.t. $+ \log M$ (1)

$\log CMA = - 0.6 - 0.01$ b.p. $+ \log M$ (2)

$\log CMA = - 1.6 - 2.2$ d $+ \log M$ (3)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Aceste ecuații sunt adecvate pentru precizarea CMA (concentrația maxim admisibilă conform terminologiei de la Geneva sau valoarea *limită prag – plafon* exprimată în mg / m^3) pentru compușii organici cu

$$30 < M < 300$$
$$-190\ ^0C < p.f. < 300\ ;$$
$$-190\ ^0C < p.t. < 180^0C$$
$$0.6 < d < 2.0\ g/cm^3$$

Să se calculeze valorile CMA după toate ecuațiile alternative date în problemă. Să se comenteze rezultatele obținute:

R. $CMA_{\alpha NQ} = 0.127$ mg / m^3 (1); $CMA_{NQ-Cl2} = 0.270$ mg / m^3

2. Sunt date constantele fizico-chimice ale compușilor cuprinși în tabelul:

Compus	M	p.t. (^0C)	p.f. (^0C)	d (g / cm^3)
Benzochinonă (BQ)	108	115		1.318
α naftochinonă (NQ)	158	125		
antrachinonă (AQ)	200	286	378	1.438

Ca și în problema anterioară să se obțină valorile CMA după toate ecuațiile alternative, indicând valorile cele mai credibile.

R. $CMA_{BQ} = 0.284$ mg/ m^3 (1) ; 0.529 mg / m^3 (3)

$CMA_{NQ} = 0.127$ mg/ m^3 (1)

$CMA_{aQ} = 0.0213$ mg/ m^3 (1)

3. Pe baza constantelor fizico – chimice ale compușilor cuprinși în tabelul:

Compus	M	p.t. (^0C)	p.f. (^0C)	d (g / cm^3)
Benzochinonă (BQ)	108	115	-	1.318
2,5 ciclohexadien 1,4 dion 2,3,5,6 tetraclor (CHL)	246	290		

și ecuațiilor (1) și (3) din problema (1) (v. cap. 7.1) să se calculeze valorile CMA.

R. CMA_{BQ}= 0.284 mg/ m^3 (1); 0.529 mg / m^3 (3); $CMA_{CHL} = 0.513$ mg/ m^3(1)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

BIBLIOGRAFIE

1. xxx Evaluation and risk assessment of chemicals. European Cooperation on Environmental Health Aspects of Control of Chemicals – Interim Document 6, Proceedings of a Seminar, Lodz, Poland, 1-6 Sept. 1980. A Gilad, S. Tarkowski eds. WHO, Regional Office for Europe, Copenhagen, 177-186, 1982
2. Niculescu T. Manual de patologie profesionala, vol. I. Editura Medicală, Bucureşti 1985
3. Manu P., Niculescu T. Practica medicinii muncii. Editura Medicală, Bucureşti 1978
4. Cotrau M., Popa I., Stan T., Preda N., Kincses-Ajtay M. Toxicologie. Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti 1991
5. xxx World Health Organization. IUTOX Training Course on Basic Toxicology. Budapest 1997
6. xxx World Health Organization. Combined Exposures to Chemicals in Work and Community Environments. European Cooperation on Environmental Health Aspects of the Control of Chemicals. Interim Document 11. WHO. Regional Office for Europe. Copenhagen, 77-196, 1983
7. xxx Toxicology, Principles and Application .Niesnik R. J. M., Vries J., Hollinger M. A. eds..CRC Press. New York, London, Tokyo, 1996
8. Motoc I. Structura moleculelor şi activitatea biologică. Editura Facla, Timişoara 1980
9. xxx Respiratory Toxicology and Risk Assessment. Jenkins P. G., Kayser D., Muhle H., Rosner G., Smith E. M. eds. Proc. Int. Symp., Wiss. Verl – Ges. Stuttgard 1994
10. xxx Principles and Methods of Toxicology. Hayes A. W. ed., Raven Press, New York, 2nd Ed., 1989
11. xxx Patty's Industrial Hygiene and Toxicology. Clayton G. D., Clayton F. E. eds. Vol. 1-3 John Wiley a Sons, Inc., New York 1981-1982
12. xxx Toxicology and Risk Assessment. Fan A. M., Chang L. W. eds. M. Dekker , Inc., 1996
13. Loomis T. A., Hayes A. W. Loomis' essentials of toxicology. Acad. Press Ltd., London, 4th Ed.., 1996
14. Firth J. G. Analytical Aspects of Occupational Hygiene. In : Proceedings of the Fortieth Chemists' Conference. Scarborough, June 9-11, 1987
15. xxx Methods used in the USSR for establishing biologically safe levels of toxic substances, 19-45, WHO, Geneva 1975
16. Simiti I., Schwartz I. Structura chimică – Activitate biologică. Editura Dacia, Cluj 1974

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

17. Wang Weng – Yang. The toxicology of substances used in the manufacture of plastics and synthetic rubber. Gigiena truda i professional' nyh zabolevanij, Leningrad Institut, 42-61, 1957
18. Cotrau M. Toxicologie – principii generale. Editura Junimea, Iaşi 1978
19. xxx Dangerous properties of industrial materials. Sax N. I.. ed. Van Nostrand Reinhold Co., 6th Ed., New York 1984
20. Lazarev N. V. Substanțe chimice nocive în industrie. Vol. II (trad.). Editura Tehnică, Bucureşti 1954
21. xxx Encyclopaedia of Occupational Health and Safety. International Labour Office, Geneva 1983
22. xxx Ministerul Sănătății. Academia de Ştiinte Medicale. Institutul de Igienă şi Sănătate Publică Bucureşti. Metodologia activității de Medicina Muncii. Caiet metodologic 2, 1989
23. Patty F. A. Industrial Hygiene and Toxicology. Vol. I. Intersc. Publ. New York, London 1958
24. Carlson R. M. Environmental Health Perspectives 87, 227-232, 1990
25. Ashby J., Tennant R. W. Mutat. Res. 204, 17-115, 1988
26. Miller J. A. Cancer Res. 30, 559-576, 1970
27. Krishana D., Gapol G., Bradie B. Pharmacology 10, 193-197, 1973
28. Krishana D., Gapol G., Bradie B. Exp. Mol. Pathology 18, 80-84, 1973
29. Pullman A., Pullman B. Adv. Cancer Res. 3, 117-121, 1955
30. Simon Z. Biochimie cuantica si interactii specifice. Editura Stiintifica, Cluj 1973
31. Miller J. A., Miller E. C. Cancer Res. 23, 229-234, 1963
32. Heller A., Pullman B. Cancer Res. 19, 618-621, 1959
33. Allison A. C., Nash T. Nature 197, 788-790, 1963
34. Allison A. C., Peover M. E., Gough T. C. Nature 12, 938-946, 1967
35. Mihailovski G.E., Kozlov I.I. Biofizika (Moskva) 12, 938-946, 1967
36. Fishbein L. Structural parameters associated with carcinogenesis (halogenated olefins, vinil and alkyl analogues and epoxides). In : Symposium on structural correlates of carcinogenesis and mutagenesis : a guide to testing priorities. Proceedings of the second FDA Office of Science summer symposium. Asher I.M., Zervos C. eds., Washington 1977
37. Simmon V.F. Structural correlations of carcinogenic and mutagenic alkyl halides. In : Symposium on structural correlates of carcinogenesis and mutagenesis : a guide to testing priorities. Proceedings of the second FDA Office of Science summer symposium. Asher I.M., Zervos C. eds., Washington 1977
38. Schmeltz I. Hydrazines : occurrence, analysis and carcinogenic activity as related to structure. In : Symposium on structural correlates of carcinogenesis and mutagenesis : a guide to testing priorities.Proceedings of the second FDA

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Office of Science summer symposium Asher I.M., Zervos C. eds., Washington 1977
39. Lijinsky W. Chemical structure and carcinogenesis of nitrosamines. In : Symposium on structural correlates of carcinogenesis and mutagenesis : a guide to testing priorities. Proceedings of the second FDA Office of Science summer symposium. Asher I.M., Zervos C. eds., Washington 1977
40. Van Duuren D.L. Environmental Health Perspectives 21, 17-22, 1977
41. Pederson L.G., Carlson G. J. Chem. Phys. 62, 2009-2012, 1975
42. Sahini V.Em., Hillebrand M., Volanschi E. Corelarea structurii moleculare cu activitatea biologică a unor hidrocarburi aromatice substituite. Contract nr. 463 / 1975. Executant Institutul de Chimie din Institutul Politehnic Bucureşti. Beneficiar Institutul de Igienă şi Sănătate Publică Bucureşti, 1975
43. xxx American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Committee on Threshold Limits : « Particle size-selective sampling in the workplace ». Cincinnati, Ohio, USA 1991
44. xxx INRS. Occupational exposure limits at the workplace : ACGIH (USA) and MAK – Kommission (Germany). Cahier de notes documentaires no 155, 1994
45. Rosenstock L., Cullen M.R. « Textbook of Clinical Occupational and Environmental Medicine, 209-224, Saunders W.B. ed., 1994
46. xxx European Committee Standardization. Workplaces atmospheres – Sizes fraction definition for measurement of airborne particles. EN 481 / 1993
47. Liden G. « Performance test for respirable dust samplers ». Licentiate Thesis. Publication 6, Lund 1994
48. Stőber W., Flachsbart H., Hochrainer D. Staub – Reinhaltung der Luft 7, 1-3, 1970
49. xxx Giom. Igienisti Industriali : « Criteri di campionamento del materiale particellato selettivo delle dimensioni delle particelle », D 53, 1991
50. Coenen W. Staub – Reinhaltung der Luft 33, 99-103, 1973
51. Coenen W. Staub – Reinhaltung der Luft 35, 452-458, 1975
52. Dallmeyes G., Stein W., Hützen I. Melliand Textilber. 64, 316-320, 1983
53. Orenstein A.J. Proc. Pneumoconiosis Conference, Johanesburg 1959. Churchill J., Churchill A. eds., London 1960
54. Bahners Th. Melliand english 3, 69-70, 1991
55. Liden G., Kenny L.C. Ann. Occup. Hyg. 35 (5), 485-504, 1991
56. Lippmann M. Environ. Res. 46, 86-106, 1988
57. Liden G. Analyst 119, 27-33, 1994
58. Ziskind M., Jones R.N., Weill H. Am. Review Resp. Dis. 113, 643-661, 1976
59. Beck E.G., Holusa R., Jirakova D., Kysela B., Robock K., Skoda V. Sonderdruck Staub – Reinh. Luft 4, 113-119, 1973

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

60. Beck E.G., Bruch J., Friedrichs K.H., Hilscher W., Pott E. Inhaled Particles 3, 477-480, 1974
61. Robock K. Beitr. Silikose Forsch. 92, 1-100, 1967
62. Robock K. Staub –Reinhaltung der Luft 28 (4), 148-160, 1968
63. Robock K., Klosterkotter K., Meja B. Silikosebericht Nordrhein – Westfalen 7, 141-149, 1969
64. Robock K. Beitr. Silikose Forsch. (Pneumokon.) 26 (3), 111-120, 1974
65. Niculescu T., Stanescu Dumitru R. Igiena 4, 253-259, 1987
66. Robock K, Reisner M.T.R. Ann. Occup. Hyg. 26, 473-479, 1982
67. Robock K., Klosterkotter K. Inhaled Particles 3, Proc. Int. Symo. 3rd., 453-468, 1971
68. Davies J.M.G., Addison J., Bolton R.E., Donaldson K., Jones A.D., Smith T. Brit. J. Exp. Pathol. 67, 415-430, 1986
69. Batis I., Simonato I., Artivieli M., Pooley F., Saracci R., Skidmore C., Wagner C. Int. J. Cancer 39, 10-17, 1987
70. Light W.G., Wei E.T. The in Vitro Effects of Mineral Dust. Brown R.C., Gormley I.P., Chamberlain M., Davies R. eds. Acad. Press, p. 139-145, 1980
71. Wylie A.G., Bailey K.F., Kelse J.W., Lee R.J. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 54 (5), 239-252, 1993
72. Wylie A.G. Canadian mineralogist 30, 437-446, 1993
73. Adamson I.Y., Bowden D.H. Am. J. Pathol. 137 (3), 523-529, 1990
74. Barrett J.C., Lamb P.W., Wiseman R.W. Environ. Health Persp. 81, 81-89, 1989
75. xxx. Mechanism in Fibre carcinogenesis.Brown R.C., Haskins J.A., Johnson N.F. eds. NATO ASI Series, Series A : Life Sciences 223, p. 589, Plenum, New York 1989
76. Dement J.M., Nettersheim P., Brody A.R. eds. Workshop on fiber toxicology research needs. Environ. Health Perspect. 88, 261-268, 1990
77. Kane A.B., MacDonald J.L. Mechanism of mesothelial cell injury, proliferation and neoplasia induced by asbestos fibers. In Fiber Toxicology Contemporary Issues (Warheit D.B. ed.), 1993
78. Law B.D., Bunn W.B., Hesterberg T.W. Inhalation Toxicol. 3, 309-321, 1991
79. xxx. Mineral Fibers and Health.Liddell D., miller R. eds. CRC Press, Boca Raton, FL 1991
80. Warhait D.B., Johnson N.F. Fundam. Appl. Toxicol.15, 633-640, 1990
81. Suquet H. Can. J. Chem. 67, 202-207, 1989
82. Richards R.J., Masek L.C., Brown F.R. Toxicologic Pathology 19 (4), 526-539, 1991
83. Kuhn D.C., Demers L.M. J. Toxicol. Environ. Health 35, 39-50, 1992
84. Gerde P., Scholander P. Brit. J. Ind. Med. 45, 682-688, 1988
85. Stănescu Dumitru R., Constantinescu V. Igiena, Medicina Muncii şi Medicina Socială 6, 497-505, 1989

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

86. Stănescu Dumitru R., Mandravel C., Bercu C. Analyst 119, 689-691, 1994
87. Stănescu Dumitru R., Mandravel C., Făgărasan E., Bercu C., Dumitru C. Spectroscopy of Biological Molecules. 6th European Conference on the Spectroscopy of Biological Molecules, Sept. 1995, Villeneuve d'Ascq, France. Merlin J.C., Turrell S., Huvenne J.P. eds., p. 111-112
88. Mandravel C., Stănescu Dumitru R., Bercu C. Rev. Roum. de Chimie 40 (9), 873-878, 1995
89. Mandravel C., Stănescu Dumitru R., Bercu C., Fagarasan E. Rev. Roum. de Chimie 42 (11), 1035-1039, 1997
90. Timbrell V., Asherolt T., Goldstein B., Heyworth E., Neurman I.O., Rendall R.E.G., Reynolds J.A., Shilkin K.B., Whitaker I. Inhaled Particles VI, Walton W.H. ed., Pergamon, Oxford 1987
91. Timbrell V. J. Occup. Health Soc. Austr. 3, 3-12, 1983
92. Lippmann M. Brit. J. Ind. Med. 37, 337-362, 1980
93. Stanton M.F., Layard M., Tegeris A., May M., Morgan E., Smith A. J. Natl. Cancer Inst. 67, 965-975, 1981
94. Wagner J.C., Moncrieff C.B., Coles R., Griffiths D.M., Munday D.E. Brit. J. Ind. Med. 43, 391-395, 1986
95. Pooley F.D., Clark N.J. Int. Agency Res. Cancer Sci Publ. 30, 79-86, 1980
96. Davis J.M.G., Addison J., Bolton R.E., Donaldson K., Jones A.D., Smith T. Brit. J. Exp. Pathol. 67, 415-430, 1986
97. Davis J.M.G. Proceedings of Mineral Fiber Symposium, Sept. 1987, Lyon, France
98. Davis J.M.G., Gylseth B., Morgan A. Thorax 41, 167-175, 1986
99. Davis J.M.G., Addison J., Bolton R.E., Donaldson K., Jones A.D., Miller B.G. Carcinogenesis 6, 667-674, 1985
100. Davis J.M.G., Beckett S.T., Bolton R.E., Collings P., Middleton A.P. Brit. J. Cancer 37, 673-688, 1978
101. Wagner J.C., Berry G., Skidmore J.W., Timbrell V. Brit. J. Cancer 29, 252-260, 1974
102. Bellmann B., Konig H., Muhle H., Pott E. J. Aerosol. Sci. 17, 341-345, 1986
103. Roggli V.L., Brody A.R. Exp. Lung Res. 7, 133-147, 1984
104. Gylseth B., Mowe G., Wannag A. Brit. J. Ind. Med. 40, 375-379, 1983
105. Guillemin M.P., Litzistor G., Buffat P.A. Ann. Occup. Hyg. 33 (2), 219-233, 1989
106. Stănescu Dumitru R., Simionescu N., Bunescu C. Analele Universităţii Bucureşti 2, 33-41,1993
107. Langer A.M., Rubin I.B., Selikoff I.J., Pooley F.D. J. Histochem. Cytochem. 20, 35-40, 1972
108. Monchaux G., Bignon J., Jaurand M.C., Lafuma J., Sebastien P., Masse R., Hirsh A., Goni T. Carcinogenesis 2, 229-236, 1981

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

109. Bernstein D.M., Drew R.T., Kuschner M. EPA 560 / 3-80 001 US. Environ. Protection Agency, Washington D.C.
110. Berghmans P.A., Waele J.K., Philippaerts J.G., Vansant E.F., Adams F.C. Surface and interface analysis 14, 760-770, 1989
111. Harrington J.S., Miller K., MacNab G. Environ. Res. 4, 95-117, 1971
112. Lemkin P., Lipkin L., Merril C., Shifrin S. Environ. Health Perspect. 34, 75-80, 1980
113. Newman H.A.J., Heske Y.E., Saat A., Hard R.D. Environ. Health Perspect. 34, 103-111, 1980
114. Saat Y.A., Newman H.A.J., Haert R.A., Allison D.K. J. Environ. Pathol. Toxicol. 4, 435-441, 1980
115. Luys M.J., Deroy G., Vansant E.F., Adams F. J. Chem. Soc. Faraday Trans. 78, 3561-3568, 1982
116. Suquet H. Clays and Clay Minerals 78, 439-445, 1989
117. Suquet H., Malard C., Fournier J., Pezerat H. Bull. Minaral. 110, 711-715, 1987
118. xxx The Occupational Environment – Its Evaluation and Control. Dinardi S.R. ed. AIHA Press 1997
119. Bonneau L., Pezerat H. J. Chim. Phys. 80 (3), 275-280, 1983
120. Bonneau L., Zalma R., Guignard J., Pezerat H., Mansuy D., Fontecave M. Proc. 3rd ind. Workshop on « In vitro Effects of Mineral Dusts » 1985, NATO ASI Series, Series G. Ecologica 1 Science H. 3E. Beck G., Bignon I. eds. p. 25-30
121. Bonneau L., Suquet H., Malard C., Pezerat H. Environ. Res. 41, 251-267, 1986
122. Stănescu Dumitru R., Mandravel C., Bercu C., Fagarasan E. Rev. Roum. de Chimie 42 (4), 257-261, 1997
123. Adachi S., Kawamura K., Yoshida S., Takemoto K.Int. Arch. Occup. Environ. Health 63, 553-557, 1992
124. Chang M.J.W., Joseph L.B., Stephens R.E., Hart R.W.J. Ann. Cell. Toxicol. 2, 187-190, 1983
125. Lund L.G., Aust A.E. Carcinogenesis 13 (4), 637-642, 1992
126. Nejjari A., Fournier J., Pezerat H., Leanderson P. Brit. J. Ind. Med. 50, 501-504, 1993
127. Lenderson P., Soderkvist P., Tagesson C. Brit. J. Ind. Med. 46, 435-438, 1989
128. Kasai H., Nishimura S. Gann 75, 841-844, 1984
129. Libbus B.L., Illenye S.A., Craighead J.E. Cancer Res. 49, 5713-5718, 1989
130. Touray J.C., Baillif P., Jourand M.C., Bignon J., Magne L. Can. J. Chem. 65, 508-511, 1987
131. Auroma O.I., Halliwell B., Dizdaroglu M. J. Biol. Chem. 264, 13024-13028, 1989
132. Shibutani S., Takeshita M., Grollmann A.P. Nature 349, 431-434, 1991

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

133.Imlay J.A., Linn S. Science 240, 1302-1309, 1988
134.Fournier J., Guignard J., Nejjari A., Zalma R., Pezerat H. The role of iron in the redox surface activity of fibres. Relation to carcinogenicity. Brown R.C., Hoskins J.A., Johnson N.F. eds. Berlin, Springer Verlag 407-404, 1991
135.Lund L.G., Aust A.E. Arch. Biochem. Biophys.278, 60-64, 1990
136.Costa D., Guignard G., Zalma R., Pezerat H. Toxicol. Ind. Health 5, 1061-1078, 1989
137.Costa D., Guignard G., Pezerat H. Toxicol. Ind. Health 5, 1079-1097, 1989
138.Kamp D.W., Graceffa P., Pryor W.A., Weitzman S.A. Free Radical in Biology and Medicine 12, 293-315, 1992
139.Ghio A.J., Zhang J., Piantadosi C.A. Arch. Biochem. Biophys. 298 (2), 646-650, 1992
140.Pooley F.D. Semin. Oncol. 8, 243-249, 1981
141.Hoffmann T.A., Ladik J. Cancer Res. 21, 474-479, 1961
142.Robock K., Klosterkotter W. Staub-Reinhalt. Luft. 33, 279-285, 1973
143.Turver C.J., Brown R.C. Brit. J. Cancer 56, 133-136, 1987
144.Gulumian M., Van Wyk J.A. Chem. Biol. Interact.62, 89-97, 1987
145.Gulumian M., Sardianos F., Kilroe – Smith T., Ockerse G. Chem. Biol. Interact. 44, 111-118, 1983
146.Gulumian M., Kilroe – Smith T. Environ. Res. 43, 267-273, 1987
147.Gabor S., Anca Z. Brit. J. Ind. Med. 32, 39-41, 1975
148.Weitzman S.A., Weitberg A.B. Biochem. J. 225, 259-262, 1985
149.Goodglick L.A., Pietras L.A., Kane A.B.Am. Rev. Respir. Dis. 139, 1265-1273, 1989
150.Fontecave M., Mansuy D., Jaouen M., Pezerat H.Biochem. J. 241, 561-565, 1987
151.Jajte J., Lao L., Wisniewska – Knypl J.M. Brit. J. Ind. Med.44, 180-186, 1987
152.De Waele J.K., Adams F.C. Scanning Microscopy 2 (1), 209-228, 1988
153.McChellan R.G., Miller F.G., Hesterberg T.W., Warheit D.B., Bunn W.B., Kane A.B., Lippmann M., Mast R.W., McConnell E.E., Reinhardt C.F.Regulatory Toxicology and Pharmacology 16, 321-364, 1992
154.xxx ILO. Safety in the use of mineral and synthetic fibres. Working document. Meeting of Experts on Safety in the Use of Mineral and Synthetic Fibres. Geneva, 17-25 April 1989
155.Ohberg I. Ann. Occup. Hyg. 31, 529-545, 1987
156.Sesko A., Cabot M., Mossman B. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 7385-7389, 1990
157.Warheit D.B., Hartsk M.A. Exp. Lung Res. 16, 81-97, 1990
158.Niculescu T., Stănescu Dumitru R. Igiena 4, 289-298, 1989
159.Lipkin L.E. Environ. Health Perspect. 34, 91-102, 1980
160.Pickrell J.A., Hill J.Q., Carpenter R.L., Hahn F.F., Rebar A.H. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 44, 557-561, 1989

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

161.Tilkes F., Beck E.G. Environ. Health Perspect. 51, 275-279, 1983
162.Tilkes F., Beck E.G. IARC Sci. 30, 475-483, 1980
163.Tilkes F., Beck E.G. Environ. Health Perspect. 51, 67-62, 1983
164.Lee K.P. CRC Crit. Rev. Toxicol. 14, 33-86, 1985
165.Lippmann M. Toxicology and Industrial Health 6 (2), 225-246, 1990
166.Lee K.P., Batras C.E., Grifith F.D., Waritz R.S.Labor.Invest.40(2), 123-133, 1979
167.xxx OMS. Bureau Regional de l'Europe-Les effets biologiques des fibres minerales artificialles. Rapport sur une reunion OMS/CIRC, Copenhagen, 20-22 apr.1982
168.Hart G.A., Newman M.M., Bunn W.B., Hesterberg T.W. Toxic. In Vitro 6, 317-326, 1992
169.Hesterberg T.W., Barrett J. C. Cancer Res. 44, 2170-2180, 1984
170.Stanton M.F., Layard M., Tegeris A., Miller E., May M., Morgan E., Smith A. J. Natl. Cancer Inst. 67, 965-975, 1981
171.Stanton M.F., Layard M., Tegeris A., Miller E., May M., Kent E. J. Natl. Cancer Inst. 58, 587-603, 1977
172.Timbrell V. Deposition and retention of fibres in the human lung. In : Inhaled Particles V. Walton W.H. ed. , 347-369, Oxford, 1982
173.Wylie A.G., Virta R.L., Segreti J.M. Environ. Res. 43, 427-439, 1987
174.Doll R. Symposium on MMMF, Copenhagen 1986: Overview and Conclusions. Ann.
Occup. Hyg. 31 (4B), 805-819, 1986
175.Morgan A., Holmes A. The deposition of MMMF in the respiratory tract of the rat, their subsequent clearance, solubility in vivo and protein coating. In: Biological Effects of Man Made Mineral Fibers, Vol. 2, p. 1-17, 1984
176.Kennedy T.P., Dodson R., Rao N.V. Arch. Biochem. Biophys. 269, 359-364, 1989
177.Norseth T. Annals of the New York Academy of Sciences 534, 377-386, 1988
178.Connett P.H., Wetterhahn K.E. Structure and Bonding 54, 93-124, 1983
179.Jennette K.W. Environ. Health Perspect. 40, 233-252, 1981
180.Norseth T. Environ. Health Perspect. 40, 121-130, 1981
181.Norseth T. Nutr. Res. Suppl. 1, 587-591, 1985
182.Ishinishi N., Yamamoto A., Hisanaga T.I. Cancer Letter 21, 141-147, 1983
183.Pershagen G., Nordberg G., Bjorklund N.E. Environ. Res. 34, 227-241, 1984
184.Rudnai P., Borzsonyi M. Magy. Qnkol. 25, 73-77, 1981
185.Cupo D.Y., Wetterhahn K.E. Cancer Res. 45, 1146-1151, 1983
186.Abbrachhio M.F., Heck J.D., Costa M. Carcinogenesis 3, 321-326, 1982
187.Hermens J.L.M. Environ. Health Perspect. 87, 219-225, 1990
188.Beck E.G., Holusa R., Jirakova D., Kysela B., Robock K., Skoda V. Sonderdruck Staub – Reinhaltung Luft 4, 113-119, 1973

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

189.xxx OEDC Guidelines for testing of chemicals. In cap. "Physical – Chemical Properties". Organization foe Economic Co-operation and Development, Paris, 1991
190.xxx European Pharmacopaeia 1, 73-75, 1974
191.Danciu F., Kory M., Luputiu G. Structura chimică – Biodisponibilitate. Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1983
192.Nealy W.B., Branson D.R., Blau G.E. Environ. Sci. Techn. 8, 1113-1119, 1975
193.Filov V.A. Biofizika 7 (1), 73-79, 1962
194.Leo A., Hansch C., Elkins D. Chemical Review 71 (6), 526-553, 1969
195.xxx Advances in Linear Free Energy Relationships. Chapman N.B., Shorter J. eds., Plenum Press, London, New York 1972
196.Zahradnik R. Arch. Int. Pharmacodyn. Theor. 135, 311-329, 1962
197.Zahradnik R. Experientia 18, 534-541, 1962
198.Zahradnik R., Bocek K., Kopecky J. Proc. 3rd . Int. Pharmacol. Meeting, New York, Pergamon, p. 127-139, 1968
199.Hansch C., Fujita T. J. Am. Chem. Soc. 86, 1616-1620, 1964
200.Fujita T., Lwasa J., Hansch C. J. Am. Chem. Soc. 86, 5175-5181, 1964
201.Clayton J.M., Parcell W.P. J. Med. Chem. 12, 1087-1090, 1969
202.Neely W.B. Chemical Pharmacology, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1970
203.Sahini V. Em., Hillebrand M. Chimie cuntică în exemple şi aplicaţii. Editura Academiei R.S.R., Bucureşti 1985
204.Golubev A.A. Kolicestvennaja toksikologija (Quantitative toxicology), Leningrad, Medicina 1973
205.Sato A., Nakajima T. Arch. Environ. Health 2, 69-75, 1979
206.Spinu E.I., Ivanova L.N. Matęmaticeskoe prognizirovanie i profilaktika zagrajaznenija okruzajuscej sredy pesticidami (Mathematical prognostication and prophylaxis of environmental pollution by pesticides). Medicina , Moskow, 1977
207.Nikiforov B. Metod opredelenija predel'no dopustimyh koncentracij atmosfernyh zagraznitelej (method for determining maximum allowable concentrations of atmospheric pollutants). Gigiena i sanitarija 10, 56-60, 1979
208. Duca G., Gonţa M., Popovici E., Lutic D., Îndrumar de laborator la cursul de Chimie Ecologică, Ed. USM, Chişinău, 140 p., 1997
209. Masters G., Introduction to Environmental Engineering & Science, Prentice Hall Int., N. Jersey, 460 p., 1991
210. R. Isfort, J. Lederberg, Toxicology for the next millennium, Ann. NYAS, 323, 2000.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

INDICI DE BAZĂ ŞI DERIVAŢI PENTRU DETERMINAREA TOXICITĂŢII ŞI APRECIEREA RISCULUI INDUS DE POLUANŢI

ANEXA 1

INDICI DE BAZĂ

- **Doza toxică** - (*D*) (determină efecte toxice) $D = C \cdot t \cdot MV \cdot \alpha$

  unde: C - concentraţia în aer
  t - timp de expunere
  MV - minut volum
  α - coeficient de reţinere în organism

- **Doza letală** - (*DL*) (toxicitatea acută provocată de substanţe admise pe cale *orală* sau *parenţială*, derivată din expunerea pe animale, utilizată la clasificarea substanţelor (mg / kg corp))
  - DL_5 (DLM – doza letală minimă)
  - DL_{50} (DML – doza medie letală)
  - DL_{75} (doza fatală)
  - DL_{100} (doza maximă letală sau doza letală absolută)
  - DL_0 (doza maximă tolerată)
- **Concentraţia letală în atmosferă** - (*CL*) (toxicitatea acută a substanţelor ce pătrund pe cale *respiratorie* – aceleaşi semnificaţii şi categorii specifice ca pentru DL)
- **Pragul de efect acut integral** - ($Lim_{ac.int.}$) (corelat cu starea generală de sănătate)
- **Pragul de efect acut specific** - ($Lim_{ac.sp.}$) (corelat cu starea unui sistem, organ, ţesut)
- **Coeficientul de acumulare** - $I = \frac{DL_{50}}{\sum DL_{50}}$
- **Pragul de efect nociv (doza, concentraţia care determină la animalele expuse în condiţii standard modificări peste limitele de adaptare)**

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ANEXA 1 (continuare)

INDICI DERIVAŢI

➡ **Zona de efect acut** - $Z_{ac} = \frac{DL_{50}}{Lim_{ac}}$

➡ **Zona de efect specific** - $Z_{sp} = \frac{Lim_{ac.int}}{Lim_{ac.sp}}$

➡ **Zona de efect critic** - $Z_{cr} = \frac{Lim_{ac.}}{Lim_{cr.}}$

unde: Lim_{cr} - pragul de efect critic

➡ **Coeficient de intoxicaţie potenţială prin inhalare** - $CIPI = \frac{CL_{20}}{CL_{50}}$

➡ **Zona de efect biologic** - $Z_{biol} = \frac{DL_{50}(sau CL_{50})}{Lim_{cr}}$

➡ **Coeficient de siguranţă** - $I_s = \frac{Lim_{cr}}{CAV}$

unde: CAV – concentraţia admisibilă de vârf

➡ **Potenţial de toxicitate** - $pT = -\log [T]$

unde: [T] - concentraţia molară toxică a substanţei (mol/kg), se calculează după DL_{50} pentru şoareci

♦ ***Limite de expunere pentru prevenirea bolilor profesionale***

- **Valoarea limită prag** – medie ponderată cu timpul (concentraţia medie ponderată cu timpul a substanţei nocive în aer 8 h/zi ⇒ 40 h/săpt. - fără producere de efecte adverse →CAM)
- **Valoarea limită prag - plafon** (concentraţia care nu trebuie depăşită nici o secundă → CAV)
- **Valoarea limită prag** - limită pentru o expunere pe termen scurt (15 min nu mai mult de două ori pe zi, distanţate cu minim 60 minute)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ANEXA 2

Predictive Nomogram - Inspiratory Capacity*
Nomogramme prédictif - Capacité inspiratoire*
Nomograma Predictivo - Capacidad Inspiratoria*

Age/Ht Âge/Taille Edad/Estatura	MALE • HOMME • HOMBRES										
	58″ 147 cm	60″ 152 cm	62″ 158 cm	64″ 163 cm	66″ 168 cm	68″ 173 cm	70″ 178 cm	72″ 183 cm	74″ 188 cm	76″ 193 cm	78″ 198 cm
20	2.35	2.55	2.70	2.90	3.05	3.25	3.40	3.55	3.75	3.90	4.10**
25	2.30	2.50	2.65	2.85	3.00	3.20	3.35	3.55	3.70	3.90	4.05
30	2.30	2.45	2.60	2.80	2.95	3.15	3.30	3.50	3.65	3.85	4.00
35	2.25	2.40	2.60	2.75	2.95	3.10	3.30	3.45	3.65	3.80	4.00
40	2.20	2.35	2.55	2.70	2.90	3.05	3.25	3.40	3.60	3.75	3.95
45	2.15	2.35	2.50	2.70	2.85	3.05	3.20	3.35	3.55	3.70	3.90
50	2.10	2.30	2.45	2.65	2.80	3.00	3.15	3.35	3.50	3.70	3.85
55	2.10	2.25	2.40	2.60	2.75	2.95	3.10	3.30	3.45	3.65	3.80
60	2.05	2.20	2.40	2.55	2.75	2.90	3.10	3.25	3.45	3.60	3.80
65	2.00	2.15	2.35	2.50	2.70	2.85	3.05	3.20	3.40	3.55	3.75
70	1.95	2.15	2.30	2.50	2.65	2.85	3.00	3.15	3.35	3.50	3.70
75	1.90	2.10	2.25	2.45	2.60	2.80	2.95	3.15	3.30	3.50	3.65
80	1.90	2.05	2.20	2.40	2.55	2.75	2.90	3.10	3.25	3.45	3.60

Age/Ht Âge/Taille Edad/Estatura	FEMALE • FEMME • MUJERES								
	58″ 147 cm	60″ 152 cm	62″ 158 cm	64″ 163 cm	66″ 168 cm	68″ 173 cm	70″ 178 cm	72″ 183 cm	74″ 188 cm
20	2.25	2.40	2.55	2.75	2.90	3.05	3.20	3.35	3.50**
25	2.20	2.35	2.50	2.65	2.80	2.95	3.10	3.25	3.40
30	2.10	2.25	2.40	2.60	2.75	2.90	3.05	3.20	3.35
35	2.05	2.20	2.35	2.50	2.65	2.80	2.95	3.10	3.25
40	1.95	2.10	2.25	2.45	2.60	2.75	2.90	3.05	3.20
45	1.90	2.05	2.20	2.35	2.50	2.65	2.80	3.00	3.10
50	1.80	1.95	2.10	2.30	2.45	2.60	2.75	2.90	3.05
55	1.75	1.90	2.05	2.20	2.35	2.50	2.65	2.80	2.95
60	1.65	1.82	1.95	2.15	2.30	2.45	2.60	2.75	2.90
65	1.60	1.75	1.90	2.05	2.20	2.35	2.50	2.65	2.80
70	1.50	1.65	1.80	2.00	2.15	2.30	2.45	2.60	2.75
75	1.45	1.60	1.75	1.95	2.05	2.20	2.35	2.50	2.65
80	1.35	1.50	1.65	1.85	2.00	2.15	2.30	2.45	2.60

* Formula used in the above Nomogram, published from *Manual of Pulmonary Function Testing*, by G. Ruppel, Mosby Publishing, 6th ed., p. 507, 1994.
**Inspiratory capacity measured in liters rounded off to the nearest 50 cc.

* La formule utilisée dans le nomogramme ci-dessus a été publiée dans le *Manual of Pulmonary Function Testing*, de G. Ruppel, Mosby Publishing, 6e edition, p. 507, 1994.
**La capacité inspiratoire est mesurée en litres, arrondis aux 50 cm3 près.

* Formula utilizada en el Nomograma anterior, publicada del *Manual of Pulmonary Function Testing*, por G. Reppel, Mosby Publishing, sexta edición, p. 507, 1994.
**Capacidad inspiratoria medida en litros redondeados a los 50 ml (cc) más próximos.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ANEXA 3.

Date standardizate comparative privind clasele de indicatori

Rom – 4706/88

INDICATORI SPECIFICI

Organoleptici NH_4, NO_3, NO_2^-, Ca, Cl_2, Cl, CO_2, fenoli, Fe, P, S^{2-}, Mg, Mn, petroliere
R.F.Na, CCO-Cr, SO_4^{2-}, Ag, Ba, Co, Cr^{3+}
Det. F, HPA, Mo, ierbicide ranzinice: insecticide Ome, RNO_2, Se, ind.eutrof. biomasă plantonică

UN – CES / 668

INDICATORI SPECIFICI

%O_2, hipolimnion şi total, ind.eutrofizare clorofilă a, ind. acidifiere
Alk, sub.periculoase - Al, PCB toxalen
Corelare {Me} = f(pH,D_t

INDICATORI COMUNI

O_2, CBO_5, CCO- Mn, As, Cd, CN, Cu, Hg, Ni ins O, O-P, Pb, Zn, raiaţii, bacterii

6 CLASE

1. Indicatori organoleptici
2. Indicatori fizici
3. Indicatori chimici
3.1. Generali, 3.2. Specifici
4. Radioactivitatea
5. Indicatori microbiologici
6. Indicatori de eutrofizare

6 CLASE

A. Regimul O_2
B. Eutrofizare
C. Acidifiere
D. Substanţe periculoase
E. Radiaţii
F. Polimicrobi

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ANEXA 3 (continuare)

Rom – 4706/88	UN – CES / 668
1.Indicatori organoleptici: culoare miros	
2. Indicatori fizici - pH	**C**. Indicatori acidifiere: pH, Alk
3. Indicatori chimici: Generali: NH_4, NO_3^-, , NO_2^-, Ca^{2+}, Cl_2, Cl^-, CO_2, *fenoli*, Fe^{2+}, *P*, S^{2-}, Mg^{2+}, Mn^{-+}, *petroliere* Specifici Ag^+, As, Ba^{2+}, Cd^{2+}, CN^-, Co^{2+}, Cr^{3+}, W^{6+}, Cu^{2+}, F^-, HPA, Hg^{2+}, Mo, Ni^{2+}, pesticide	**A.**Regim de oxigen % OD (c, h, t) O_2 mg/l, CBO_5-Mn **D.1**. Substanțe periculoase-metale grele şi CN^-, Al , As, Cu, Pb, Hg, Ni. **D.2.** Alte substanțe organice: pesticide, PCB, toxafen, pentaclor fenol
4. Radioactivitatea	**E.** Radioactivitate
5. Indicatori microbiologici: bacterii	**F**. Poluare microbiană: coliformi termo-toleranți: streptococi fecali
6. Indicatori eutrofizare lacuri, %, O_2, N, P, biomasa fitoplatonic	**B.** Eutrofizare: N, P, clorofilă a

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ANEXA 4

Concentrația de saturație a oxigenului (^{0}C)

în apă la 1013.25 mbar

Temperatura, °C	Oxigen dizolvat, mg/dm^3	Temperatura, °C	Oxigen dizolvat mg/dm^3
0	14,62	26	8,22
1	14,23	27	8,07
2	13,84	28	7,92
3	13,48	29	7,77
4	13,13	30	7,63
5	12,80	31	7,50
6	12,48	32	7,40
7	12,17	33	7,30
8	11,87	34	7,20
9	11,59	35	7,10
10	11,333	36	7,00
11	11,08	37	6,90
12	10,83	38	6,80
13	10,60	39	6,70
14	10,37	40	6,60
15	10,15	41	6,50
16	9,95	42	6,40
17	9,74	43	6,30
18	9,54	44	6,20
19	9,35	45	6,10
20	9,17	46	6,00
21	8,99	47	5,90
22	8,83	48	5,80
23	8,68	49	5,70
24	8,53	50	5,60
25	8,38		

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ANEXA 5.

Distribuţia speciilor de *Caraboidea* pe probe şi abundenţelor lor în cultura de trifoi înainte de administrarea insecticidelor

	Prezenţa speciilor în probe de Carabadea pe probe şi abundenţelor lor																								
	în cultura de trifoi înainte de administrarea insecticidelor																								
Nr.	aprilie							mai			iunie						iulie					august			Suma
crt	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	probe
1	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	24
2	+	+		+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	24
3			+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	20
4														+	+	+	+			+	+		+	+	8
5	+	+	+	+	+	+	+	+						+	+	+	+								12
6		+	+		+	+		+							+		+						+		6
7																		+	+	+			+		5
8						+		+	+	+	+		+			+									7
9												+						+		+	+	+			6
10							+	+	+	+						+						+			6
11			+			+	+		+	+															6
12	+		+	+			+																		4
13			+														+		+	+					4
14																			+						2
15								+		24															2
	după administrarea pesticidelor																								
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	24
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	24
3			+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	20
4														+	+	+	+			+	+		+	+	8
5	+	+	+	+	+	+	+	+						+	+	+	+								12
6		+	+			+		+							+		+						+		8
7																		+	+	+	+		+		5
8						+		+	+	+	+		+			+		+		+	+	+	+		7
9															+			+			+				6
10							+	+	+	+	+					+									6
11			+			+	+		+	+															5
12	+		+	+			+										+								4
13			+																+	+					4
14																			+					+	2

VERIFICAT 2017

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tiparul s-a executat sub c-da nr. 1032/2003 la
Tipografia Editurii Universităţii din Bucureşti

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

87000 lei

ISBN 973-575-725-7

Lei 87000

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro